

EFFETS IMMUNOLOGIQUES DE LA CONTAMINATION
PAR LES POLYCHLOROBIPHENYLES (PCB) :
ETUDE DE LEUR ACTION SUR LA SENSIBILITE
DE LA SOURIS
A UNE INFECTION GRIPPALE EXPERIMENTALE.

THESE

PRESENTEE A L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD DE LYON

(MEDECINE - PHARMACIE)

ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 6 MAI 1980

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VETERINAIRE

PAR JEAN-FRANCOIS BERNARDET

NE LE 25 JUIN 1955 A LYON



EFFETS IMMUNOLOGIQUES DE LA CONTAMINATION
PAR LES POLYCHLOROBIPHENYLES (PCB) :
ETUDE DE LEUR ACTION SUR LA SENSIBILITE
DE LA SOURIS
A UNE INFECTION GRIPPALE EXPERIMENTALE.

THESE

PRESENTEE A L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD DE LYON

(MEDECINE - PHARMACIE)

ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 6 MAI 1980

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VETERINAIRE

PAR JEAN-FRANCOIS BERNARDET

NE LE 25 JUIN 1955 A LYON





PERSONNEL ENSEIGNANT DE L' ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

DIRECTEUR : Monsieur le Professeur COTTEREAU

DIRECTEURS HONORAIRES : Messieurs les Professeurs
TAPERNOUX, FLORIO, FROGET

PROFESSEURS :

- Alimentation	M. WOLTER
- Anatomie	M. BARONE
- Chirurgie	M. COULON
- Histologie et Anatomie Pathologique	M. TISSEUR
- Hygiène et Industrie des aliments d'origine animale	M. CHANTEGRELET
- Maladies Contagieuses	M. JOUBERT
- Parasitologie	M. EUZEBY
- Pathologie générale - Microbiologie - Immunologie	M. OUDAR
- Pathologie médicale du bétail	M. COTTEREAU
- Pathologie médicale des Equidés et Carnivores	M. FONTAINE
- Pathologie de la reproduction	M. BERTRAND
- Pharmacie - Toxicologie	M. LORGUE
- Physiologie - Thérapeutique	M. BOST
- Physique et Chimie biologiques et médicales	M. DELATOUR
- Zootechnie	M. FROGET

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

MM. BOIVIN, DESCHANEL, GASTELLU, JEAN-BLAIN, LAPRAS, Mlle LAVAL,
MM. LE NIHOUANNEN, PRAVE

MAITRES-ASSISTANTS AGREGES :

MM. FRANCK, KECK.

MAITRES-ASSISTANTS :

M. BELLI, Mme CHAUVE, M. CHOMEL, Mlle COURSAT, MM. DEMONT, DENOIX,
EUZEBY, FAU, GARNIER, GEVREY, GOUY, JAUSSAUD, LEGEAY, NEYRET, Mme RACHATL,
M. RICHARD.

ASSISTANTS :

M. BENOIT, BEZEAUD, Mme CHAPPUIS, M. CHARLET, Mlle FAUBLEE, MM. FOURNEL,
FRESNAY, GENIN, Mme HACHLER, MM. LEFOURNIER, MAY, NGO TAN, RAGUIN,
THIEBAULT, THIEVENAZ.

EXAMINATEURS DE LA THESE :

PRESIDENT	M. le Professeur BERTOYE, de la Faculté de Médecine LYON NORD
PREMIER ASSESSEUR	M. le Professeur LORGUE, de l'Ecole Nationale Vétérinaire
DEUXIEME ASSESSEUR	M. le Professeur FONTAINE, de l'Ecole Nationale Vétérinaire.

L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1, et L'ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation, ni improbation.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553406_0034

A notre Président de Thèse,

Monsieur le Professeur BERTOYE,
Professeur à la Faculté de Médecine LYON NORD,

qui nous fait le grand honneur d'accepter la Présidence de
notre Jury de Thèse,

Nous le prions de trouver ici le témoignage de notre
reconnaissance et de notre profond respect.

A Monsieur le Professeur LORGUE,
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON,

qui a bien voulu s'intéresser à notre travail et a accepté
de le juger ;

A Monsieur le Professeur FONTAINE,
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON,

qui s'est penché sur notre travail et a accepté de le juger;

Nous souhaitons qu'ils trouvent ici l'expression de notre reconnaissance.

A Monsieur KECK,
Maître-Assistant Agrégé de Pharmacie et Toxicologie à
l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON,

que nous remercions d'avoir bien voulu nous confier ce travail.
Nous lui sommes reconnaissant de la bienveillante attention et
de la compréhension dont il nous a entouré, et des conseils
qu'il nous a prodigués.

A Madame FONTAINE,
Docteur Vétérinaire, Ingénieur INRA détachée au Laboratoire de
Pathologie Médicale de l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON,

dont la compétence nous a particulièrement aidé pendant notre
travail.
Nous lui sommes reconnaissant des encouragements qu'elle nous
a apportés et de ses conseils qui nous ont guidé dans la
réalisation de cette thèse.

A Monsieur GASTELLU,
Professeur sans Chaire à l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON,

qui nous a accueilli dans son laboratoire, et nous a aidé dans
notre travail,

Aux membres du personnel du Laboratoire d'Histologie et du Laboratoire
de Pharmacie - Toxicologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON,

qui nous ont aidé dans la réalisation de ce travail.

Nous souhaitons qu'ils trouvent ici l'expression de notre
profonde gratitude.

A ma famille,

A mes amis,

dont la présence et la bonne humeur m'ont soutenu pendant
toutes mes études.

PLAN

<u>INTRODUCTION</u>	n. 1
<u>1 - LES PCB : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES GENERALES</u>	3
1.1. <u>Structure et préparation</u>	3
1.2. <u>Propriétés physico-chimiques</u>	4
1.3. <u>Applications industrielles et sources de contamination</u>	4
1.4. <u>Devenir dans le milieu naturel</u>	6
1.4.1. <u>Transport et distribution dans le milieu abiotique</u>	7
1.4.2. <u>Transport et distribution liés aux facteurs biologiques</u>	7
1.5. <u>Toxicologie des PCB</u>	8
1.5.1. <u>Métabolisme des PCB dans l'organisme</u>	8
+ Absorption	8
+ Distribution dans l'organisme	9
+ Biotransformation	9
+ Elimination	10
+ Passage transplacentaire	11
+ Passage dans les oeufs	12
+ Influence de la structure sur la rétention	13
1.5.2. <u>Toxicité des PCB</u>	15
+ Toxicité clinique	15
+ Autres effets biologiques	18
= Action des PCB sur les fonctions hépatiques	18
= Action des PCB sur les fonctions de reproduction	24
= Effets cancérogènes des PCB	26
<u>2 - LE SYSTEME IMMUNITAIRE : ORGANISATION GENERALE ET SENSIBILITE AUX POLLUANTS</u>	30
2.1. <u>Données générales sur le système immunitaire</u>	30
2.1.1. <u>Organisation générale</u>	30
2.1.2. <u>Immunité cellulaire et immunité humorale</u>	30
2.1.3. <u>Le déroulement de la réponse immunitaire</u>	32
2.2. <u>Sensibilité du système immunitaire aux polluants</u>	34

3 - <u>ETUDE DES EFFETS DE LA CONTAMINATION PAR LES PCB SUR LES</u> <u>ORGANES IMMUNOCOMPETENTS DE LA SOURIS ET SUR SA SENSIBILITE</u> <u>A UNE INFECTION GRIPPALE EXPERIMENTALE</u>	39
3.1. <u>Protocole expérimental</u>	40
3.1.1. <u>Choix de l'espèce animale</u>	40
3.1.2. <u>Choix de l'infection expérimentale</u>	40
3.2. <u>Matériel</u>	42
3.2.1. <u>Les souris</u>	42
3.2.2. <u>Le PCB et son administration</u>	42
3.2.3. <u>L'infection virale</u>	43
3.3. <u>Méthode</u>	45
3.3.1. <u>Période de contamination</u>	45
3.3.2. <u>Période d'expérimentation</u>	45
3.4. <u>Résultats</u>	46
3.4.1. <u>Etat général et gain de poids pendant la contamination</u>	46
3.4.2. <u>Evolution de la maladie expérimentale</u>	47
3.4.3. <u>Résultats de l'autopsie</u>	48
3.4.4. <u>Résultats histologiques</u>	50
3.4.5. <u>Dosage des résidus de DP5</u>	51
3.5. <u>Discussion</u>	51
3.5.1. <u>Etat général et gain de poids pendant la contamination</u>	51
3.5.2. <u>Evolution de la maladie expérimentale</u>	56
3.5.3. <u>Etat de la rate et du thymus</u>	60
3.5.4. <u>Etat du foie</u>	65
= aspect macroscopique	65
= aspect histologique	66
= aspect biochimique	69
3.6. <u>Bilan</u>	70
3.6.1. <u>Mode d'action des PCB</u>	70
3.6.2. <u>Choix du modèle</u>	71

INTRODUCTION

Lorsqu'en 1964, l'analyste suédois JENSEN a entrepris ses recherches par la toute nouvelle méthode de couplage chromatographique en phase gazeuse - spectrométrie de masse, il cherchait à identifier les nombreux pics non répertoriés, trouvés depuis quelques temps déjà par lui-même et d'autres chercheurs, par la seule technique de chromatographie en phase gazeuse, lors de la recherche de résidus d'insecticides organochlorés dans des prélèvements provenant d'animaux sauvages. La technique récente permet alors d'identifier ces pics inconnus comme étant dus à des composés organochlorés particuliers, les biphényles polychlorés, plus couramment appelés PCB (polychlorobiphenyls en anglais.).

Ces composés, dont la production commerciale n'a commencé qu'en 1930, et n'est devenue importante que dans les années 1960-70, (100.000 tonnes produites annuellement dans le monde), n'avaient jusqu'alors fait parler d'eux que par des problèmes d'intoxications professionnelles - en particulier parmi le personnel affecté à leur fabrication (chloracné).

Leur identification dans le milieu naturel par JENSEN et, depuis, leur découverte dans des échantillons biologiques provenant du monde entier et de tous les écosystèmes (85), les ont placés au rang de ce que l'on peut appeler les micropolluants, composés universellement répandus à des concentrations généralement faibles, mais dont la toxicité est progressive, cumulative, chronique : c'est par exemple, le cas du trop fameux DDT. Cela est dû en grande partie à leur stabilité exceptionnelle dans le milieu et dans les organismes vivants.

Ceci n'empêche pas l'existence de cas d'intoxications cliniques dus à la contamination accidentelle d'aliments par les PCB. Ces cas, rares, existent chez les animaux et chez l'homme - tels ceux survenus en 1968 au Japon, dus à la consommation d'huile de riz contaminée par du Kanechlor 400 par suite d'une fuite dans un échangeur thermique ("Yusho oil disease").

Les PCB représentent sans conteste un aspect important de la pollution par des résidus organochlorés à l'heure actuelle :

- au plan de la santé animale : car ils entraînent encore parfois des accidents chez les animaux domestiques, et surtout du fait que leur toxicité à long terme, si elle est encore mal évaluée, n'en est pas moins inquiétante ;
- au plan de l'hygiène publique : car une réglementation et un contrôle stricts doivent assurer des teneurs maximales tolérées dans les denrées alimentaires ;
- au plan de l'écologie générale : car ils représentent un contaminant-type des milieux naturels et un modèle d'étude.

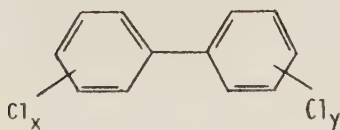
Dans ce travail, nous exposerons tout d'abord les données générales concernant les PCB, sous forme d'une revue bibliographique, dans une première partie ; cela nous conduira à considérer que les PCB peuvent exercer sur les organismes des animaux un effet immuno-dépresseur, que nous développerons dans une seconde partie, elle aussi bibliographique ; dans la troisième partie, à caractère expérimental, sera présentée une étude de l'influence de la contamination par le DP5 sur la résistance de souris à une infection grippale expérimentale.

Ce type d'étude, qui tend à prendre de l'importance à l'heure actuelle, permet d'aborder les relations pouvant exister entre pollution et pathologie.

1 - LES P C B : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES GENERALES :

Dans cette étude très générale, nous définirons tout d'abord les substances envisagées, par leur structure, leur préparation et leurs propriétés. Après avoir donné un aperçu de leurs utilisations industrielles, nous serons conduit à étudier leur devenir dans le milieu naturel, et enfin leur toxicité.

1.1 - STRUCTURE ET PREPARATION :



La structure générale des PCB (voir figure ci-contre) est celle du diphenyle $C_6H_5-C_6H_5$, substitué par un nombre variable d'atomes de chlore (2 à 10).

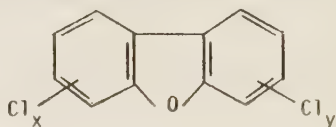
Leur préparation industrielle est effectuée par chloration directe du diphenyle, mis en présence de chlore anhydre. Il est important de noter que ce procédé donne naissance, non pas à un composé défini, mais à un mélange complexe de produits dont le degré de substitution est variable, avec, en outre, différents isomères de position pour chaque nombre d'atomes de chlore. C'est en faisant varier le pourcentage de chlore lors de la réaction que l'on peut orienter la composition du mélange vers une chloration moyenne permettant d'obtenir les propriétés techniques requises.

Ceci explique les dénominations commerciales des produits, qui indiquent toujours la teneur moyenne en chlore du mélange. Par exemple, aux U.S.A. : Aroclor 1232, 1248, 1254, 1262... (Monsanto), où 12 indique le nombre d'atomes de carbone, et le chiffre suivant, le pourcentage de chloration du mélange ; en France : Phénoclor = DP₄, DP₅, DP₆ (Prodelec), où DP signifie diphenyle, et le chiffre le nombre moyen d'atomes de chlore par molécule.

Notons dès à présent qu'il existe en outre des composés voisins des PCB, comportant trois noyaux benzéniques ou plus, substitués par un nombre variable d'atomes de chlore, et dont les propriétés et les utilisations sont très proches de celles des PCB : les polychloroterphényles (PCT) et les naphthalènes polychlorés ; eux aussi ont été retrouvés dans les milieux naturels où leur toxicité s'ajoute à celle des PCB et du DDT (18, 27, 118).

De plus, l'industrie fait appel à des composés aromatiques non plus chlorés, mais bromés, qui peuvent eux aussi être considérés comme des contaminants assez répandus et toxiques : les polybromobiphenyles (PBB) et polybromoterphényles (PBT) (18, 24, 60).

Enfin, lors de la fabrication industrielle des PCB, il y a souvent formation d'impuretés qui se retrouvent dans les produits commerciaux, et donc dans le milieu : ce sont les polychlorodibenzofuranes (voir figure ci-contre) - substances très toxiques, dont certains auteurs pensent qu'elles pourraient être la cause de la majeure partie des effets toxiques des PCB (73, 76, 112, 108).



1.2 - PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES :

Sans nous préoccuper ici des particularités physiques et chimiques qui n'intéressent que l'industrie, nous insisterons sur quelques points fondamentaux pour le rôle écologique et toxicologique des PCB. Composés aromatiques chlorés, les PCB sont très solubles dans les solvants organiques et les graisses, mais pratiquement pas dans l'eau.

Ce sont des composés extrêmement stables, bien plus que les autres organochlorés : les agents physiques (chaleur, rayonnements), chimiques et biologiques sont peu actifs sur eux. Signalons par exemple, que la seule méthode de destruction efficace et autorisée est un chauffage à 1400° C (49).

1.3 - APPLICATIONS INDUSTRIELLES ET SOURCES DE CONTAMINATION :

Il serait difficile et sans intérêt de faire ici une revue exhaustive de ces applications, qui sont fort nombreuses. Nous signalerons seulement les plus répandues (49, 77, 85).

Depuis les débuts de la production industrielle des PCB, en 1930, on estime que plus d'un million de tonnes a été commercialisée. Les Etats Unis restent le plus gros producteur mondial, mais la fabrica-

tion des PCB a pris de l'importance en U.R.S.S., et en Europe. Depuis 1975, ils ne sont plus fabriqués au Japon ; depuis 1971, au U.S.A. et en Suède, et, depuis 1973 dans les autres pays, la fourniture des PCB est, d'après les fabricants, réservée aux utilisations en circuit fermé.

En effet, on peut distinguer, d'après les risques d'impact sur l'environnement, trois types d'application industrielle :

1.3.1. Les systèmes clos contrôlables :

Cas des PCB utilisés comme diélectriques dans les transformateurs et les gros condensateurs, et qui ne posent de problème qu'en cas de fuite accidentelle, et lors de la mise au rebut de l'appareil : dans ce dernier cas, la quantité de PCB qu'ils contiennent suffit pour justifier leur récupération. Ceci représente l'utilisation majeure des PCB.

1.3.2. Les systèmes clos non contrôlables :

Cas des PCB utilisés dans des systèmes hydrauliques et d'échange thermique qui, bien que fonctionnant théoriquement en circuit fermé, permettent des fuites. Mais surtout, il s'agit des PCB utilisés en faibles quantités dans d'innombrables petits condensateurs (tubes fluorescents, moteurs, émetteurs radio...), des redresseurs, des régulateurs de tension, etc... qu'il est impossible de récupérer quand le matériel est hors d'usage, et qui sont donc dispersés.

1.3.3. Les systèmes ouverts (= à produit perdu) :

Les PCB sont alors en contact direct avec l'environnement, et irrécupérables. C'est le cas des PCB utilisés comme agents plastifiants et anticorrosifs dans les peintures et vernis, comme agents lubrifiants dans les huiles de graissage, comme agents améliorateurs des plastiques et polymères, mais aussi dans les caoutchoucs, les adhésifs, les encres d'imprimerie, les papiers, les savons, les insecticides et bien d'autres produits.

Ainsi, plus de la moitié de la production mondiale a été rejetée dans les dépotoirs et les trous de comblement, d'où les PCB - très stables - ne seront libérés que très lentement. Quant au reste, il a largement pénétré dans l'environnement par la voie de rejets de liquides industriels dans les rivières et les mers, par des fuites de systèmes

incontrôlables, par volatilisation dans l'atmosphère lors de l'incinération dans les dépotoirs, et par diffusion lente à partir des peintures, des matières plastiques, des pesticides (77, 85). Voir figure 1.

Outre ces différents modes de contamination insidieuse des milieux naturels, il existe des contaminations directes de l'homme et des animaux domestiques, qui sont, en général, d'origine accidentelle, par pollution de denrées alimentaires. En ce qui concerne l'homme, nous avons déjà cité l'exemple du "Yusho oil disease", dû à de l'huile de riz contaminée ; chez les animaux domestiques, on a souvent signalé des intoxications chez les volailles, soit par de la farine de poissons contaminée, soit par picorage de grillages plastifiés. L'alimentation des bovins a rarement été contaminée, mais ils peuvent être intoxiqués, soit par des peintures anticorrosives utilisées dans des silos, soit par des tapis décrottoirs en caoutchouc sur le sol des étables (111).

Quoique des symptômes soient rarement observés chez les animaux domestiques, ces contaminations sont néanmoins dangereuses dans la perspective de l'hygiène des denrées alimentaires d'origine animale et destinées à l'homme.

Ayant envisagé les modes de pénétration des PCB dans les milieux naturels, il nous faut maintenant y étudier leur devenir.

1.4 - DEVENIR DANS LE MILIEU NATUREL :

Le devenir des PCB dans la nature, proche de celui des autres organochlorés, est néanmoins défini par leurs particularités physico-chimiques, et surtout par leur extrême stabilité qui explique qu'ils soient très peu dégradés, tant par les facteurs physiques (radiations), que par les facteurs biologiques (métabolisme des bactéries ou des animaux supérieurs). On les retrouve donc à peu près intacts à tous les niveaux. La répartition des PCB dans les milieux et dans les êtres vivants dépend de deux types de mécanismes :

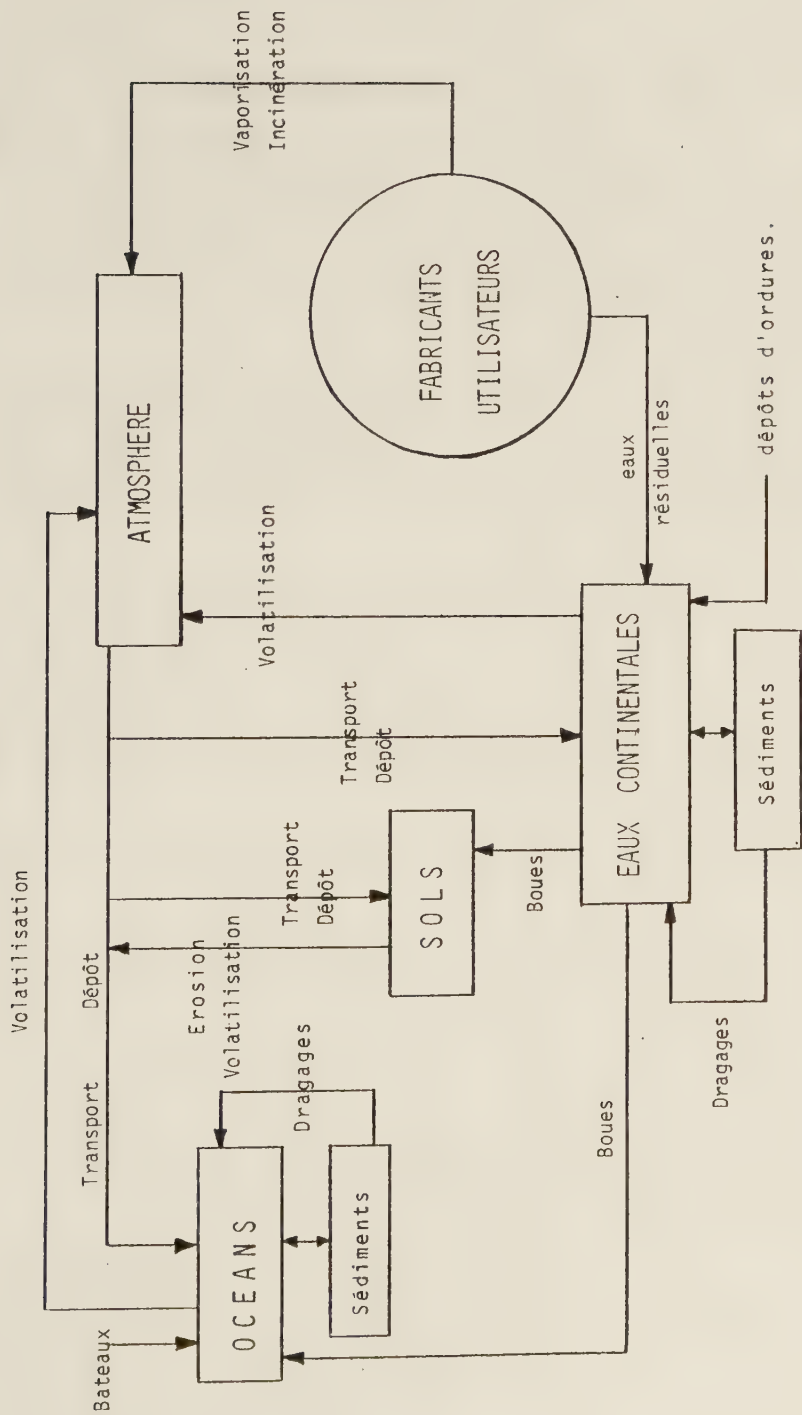


FIGURE 1 : SCHEMATISATION DU CYCLE DES PCB DANS LE MILIEU ABIOTIQUE, (D'APRÈS RAFFENOT).

1.4.1. Transport et distribution dans le milieu abiotique (voir figure 1)

+ Dans l'atmosphère : par volatilisation lors de la combustion de substances contenant des PCB, ou bien par diffusion à partir de peintures ou de pesticides, les PCB se retrouvent en suspension dans l'air et peuvent, soit retomber sur le sol, soit être adsorbés sur des particules et donc être transportés par les vents ; le retour au sol se fait alors par les pluies ou les brouillards.

+ Dans l'hydrosphère : du fait de leur hydrosolubilité à peu près nulle, que ce soit dans les eaux douces ou marines, superficielles ou phréatiques, les PCB se trouvent sous forme adsorbée à des particules en suspension, des végétaux, des sédiments vaseux au niveau desquels il existe un véritable stockage.

Ces deux modes de transport assurent, grâce aux vents et aux courants la répartition mondiale des PCB que l'on connaît actuellement.

+ Dans les sols : Les PCB des sols proviennent du dépôt de particules aériennes, surtout près des villes, de la pénétration des eaux polluées, mais aussi de l'utilisation de PCB dans certains pesticides (77).

Mais ces facteurs physiques ne doivent pas faire oublier l'importance des facteurs biologiques dans la répartition des PCB.

1.4.2. Transport et distribution liés aux facteurs biologiques.

Les PCB présents dans les milieux naturels vont subir, lors de leur pénétration dans les êtres vivants, deux types de phénomènes :

+ Bioaccumulation : bien connue, surtout au niveau des organismes aquatiques, elle est due aux échanges permanents de ceux-ci avec l'eau, amenant une concentration progressive des résidus dans leurs tissus, par voie transcutanée et surtout branchiale.

Ce facteur de concentration peut atteindre 10^4 , comme le montrent certains travaux effectués sur des mollusques, des crustacés, des poissons (40, 85, 90), et l'on parvient ainsi à des teneurs parfois très importantes.

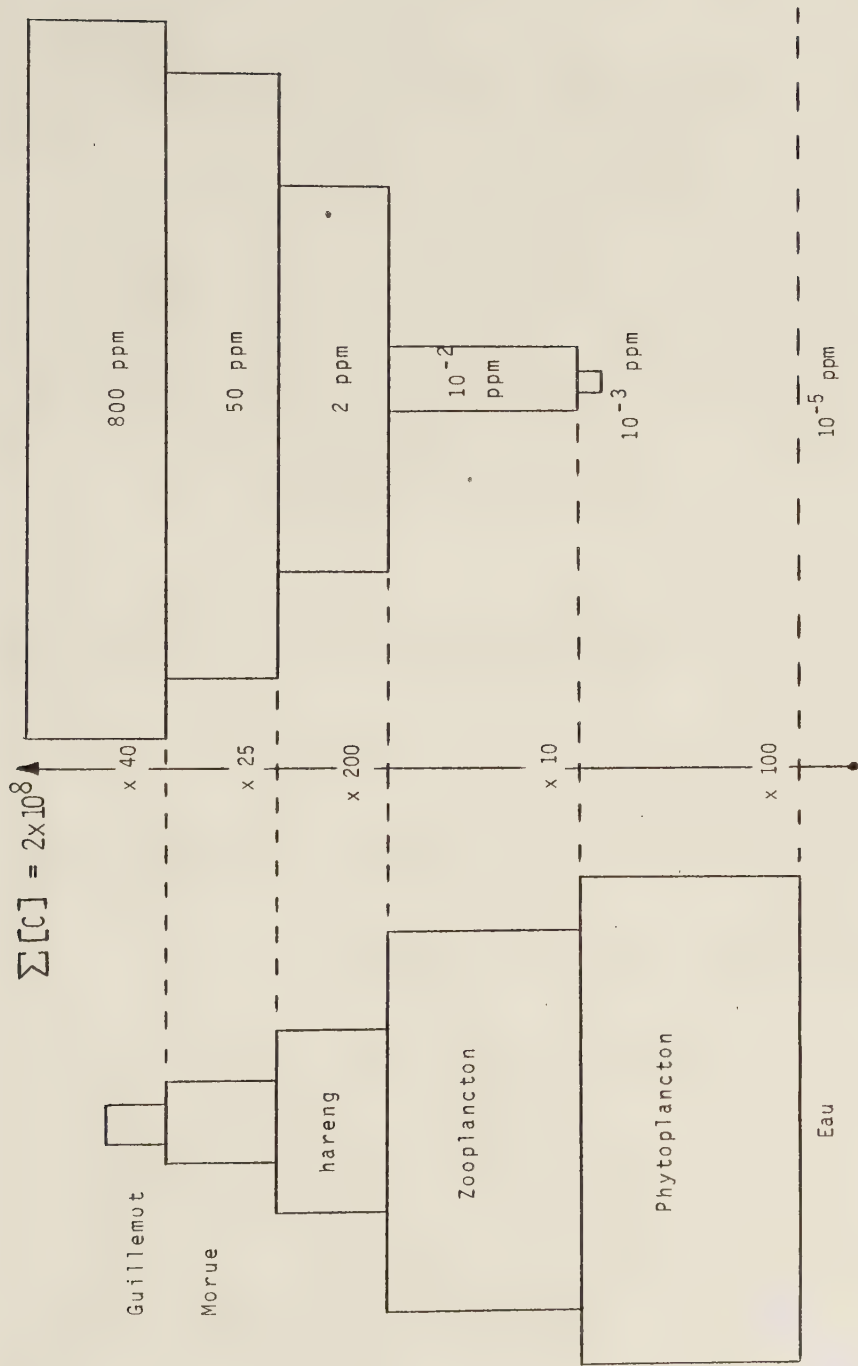


FIGURE 2 : DIAGRAMME DE LA CONCENTRATION DES PCB PAR UNE CHAÎNE ALIMENTAIRE DANS L'Océan Atlantique. L'importance des compartiments des pyramides est en relation, A GAUCHE : AVEC LES BIOMASSES ; ET À DROITE : AVEC LES CONCENTRATIONS EN PCB.

+ Concentration par les chaines alimentaires : schématiquement, tout écosystème se compose d'un certain nombre de chaines alimentaires où chaque maillon sert de nourriture au maillon supérieur. Au niveau de chacun de ces maillons, les PCB ne sont pratiquement pas dégradés et s'accumulent dans les lipides tissulaires ; ils seront donc retrouvés en concentration croissante tout au long de la chaine alimentaire (101, 65, 85). Les teneurs retrouvées en bout de chaine sont souvent très importantes, que ce soit chez les poissons prédateurs - brochet : étude de KECK et RAFFENOT sur la rivière du Furans, dans l'Ain (50); - les oiseaux piscivores-grèbes, hérons, pélicans ; les mammifères aquatiques - phoques, otaries - (26) ; l'homme, qui accumule en moyenne 1 ppm de PCB dans ses graisses (20) ; et les animaux domestiques (voir figure 2 : exemple d'une chaine alimentaire de l'Océan Atlantique).

Ayant constaté ainsi la réalité et la gravité de la présence des PCB dans les tissus des animaux, envisageons maintenant leurs répercussions biologiques.

1.5 - TOXICOLOGIE DES PCB :

Nous étudierons tout d'abord le métabolisme des PCB, puisqu'il conditionne une bonne part de leurs effets, puis leur toxicité elle-même.

1.5.1. Métabolisme des PCB dans l'organisme : (voir figure 3)

+ Absorption : Chez les poissons et les invertébrés aquatiques, l'absorption des PCB peut se faire à travers la peau, les branchies, directement à partir du milieu, mais aussi par absorption alimentaire. Chez l'homme et les animaux terrestres, la voie d'absorption majeure est la voie digestive, par contamination alimentaire. La pénétration percutanée existe aussi, comme l'ont montré VOS et BEEMS en appliquant des PCB sur la peau de lapins et en déclenchant chez eux des symptômes d'intoxication générale (110). Chez les personnes travaillant à la fabrication des PCB, il semble que cette voie cutanée, combinée à une inhalation, puisse expliquer leur contamination (77).

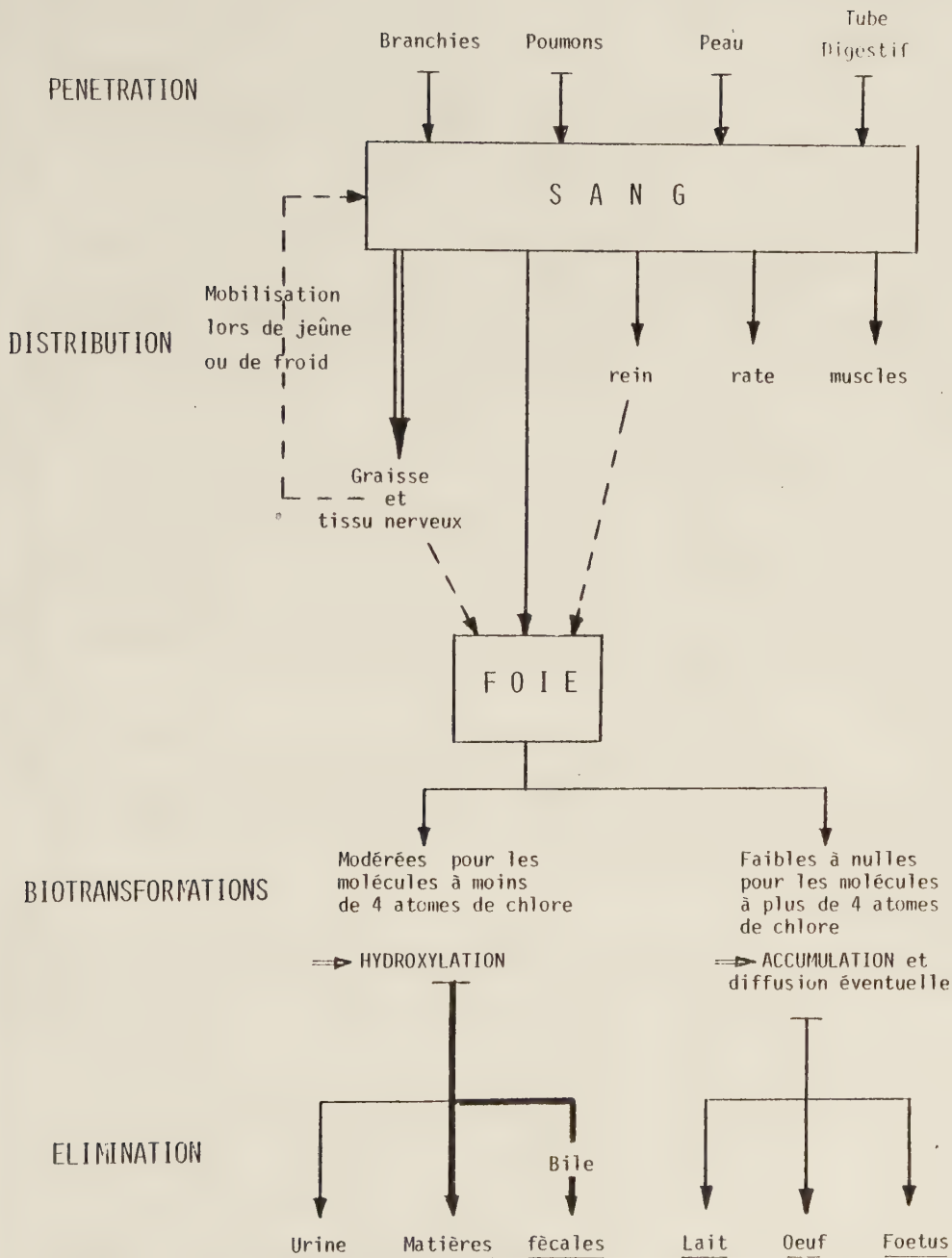


FIGURE 3 : DEVENIR DES PCB DANS L'ORGANISME.

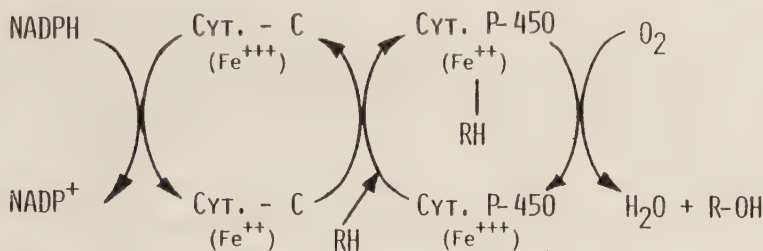
Dans le cas où les PCB sont ingérés, ils sont absorbés très rapidement au niveau des muqueuses digestives (2, 3).

+ Distribution dans l'organisme : D'une façon générale, les études réalisées sur ce sujet montrent que les PCB s'accumulent préférentiellement dans les tissus riches en lipides, ce qui s'explique par leur caractère hautement liposoluble ; on les retrouvera donc surtout dans les graisses et les tissus nerveux, et à un moindre degré, dans le foie, les reins, la rate, le cœur et les muscles squelettiques (3, 25, 29, 121). Mais cette distribution n'est pas statique dans le temps ; ALLEN, NORBACK et HSU (6) notent, par exemple, qu'après avoir donné à des Macaques une seule dose de 3 g/kg d'Aroclor 1248 par voie orale, la concentration de ce mélange de PCB est maximale au début dans les fèces (passage par la bile) et le foie, et plus faible dans le cerveau et les reins. Mais après deux semaines, cette concentration augmente dans le foie et diminue dans le cerveau et les reins : il y a eu mobilisation des PCB de ces organes au profit du foie.

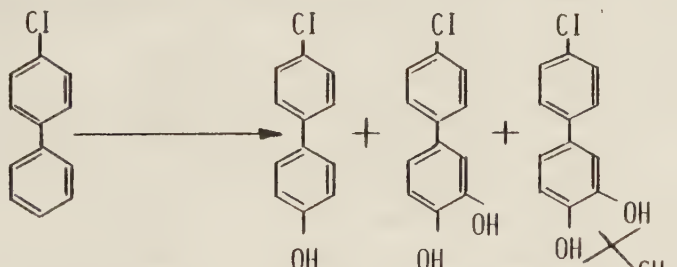
De même, les PCB accumulés dans les graisses peuvent être libérés lors de la mobilisation des lipides en période de jeûne ou de froid. Ce phénomène, qui existe chez les oiseaux (109) et les mammifères (8), entraîne une brutale libération de PCB dans l'organisme, et des concentrations toxiques.

+ Biotransformations : Dans l'ensemble des espèces, la dégradation des PCB est très limitée : la seule réaction observée au niveau des microsomes hépatiques consiste en une hydroxylation partielle des molécules de PCB, avec fixation d'un ou deux radicaux OH (14, 29, 88, 121). Il est important de noter que cette réaction se fait essentiellement aux dépens des molécules peu chlorées (4 atomes de chlore au plus), dont la polarité, et donc l'hydrosolubilité, sont améliorées par l'hydroxylation, ce qui explique leur élimination par la bile et l'urine. Par contre, les molécules comportant plus de 4 atomes de chlore, s'accumulent beaucoup plus dans l'organisme, et constituent la majeure partie des résidus à long terme (voir figure 4).

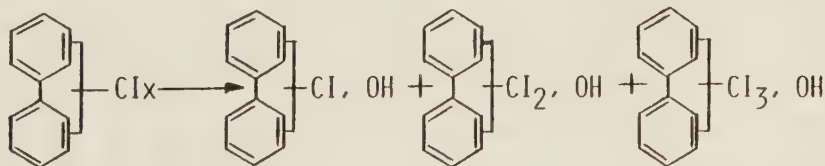
L'hydroxylation des composés halogénés dans les microsomes hépatiques peut se faire par voie directe, mais aussi avec passage par



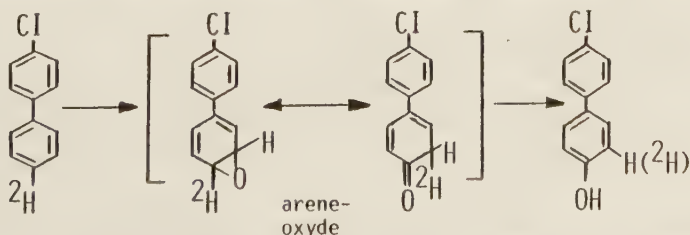
a : CHAÎNE DE TRANSPORT ÉLECTRONIQUE DE L'HYDROXYLASE MICROSOMALE.



b : MÉTABOLISME DU 4-CHLOROBIPHÉNYLE PAR LA GRENOUILLE



c : MÉTABOLISME DE L'AROCLOR 1254 PAR LA GRENOUILLE.



d : MIGRATION DU DENTÉRIUM LORS DU MÉTABOLISME PAR LA GRENOUILLE DU 4-CHLOROBIPHÉNYLE MARQUÉ : MISE EN ÉVIDENCE D'ARENE-OXYDE

FIGURE 4 : MÉTABOLISME DES HYDROCARBURES POLYCYCLIQUES HALOGÉNÉS. (D'APRÈS SAFE ET AL)

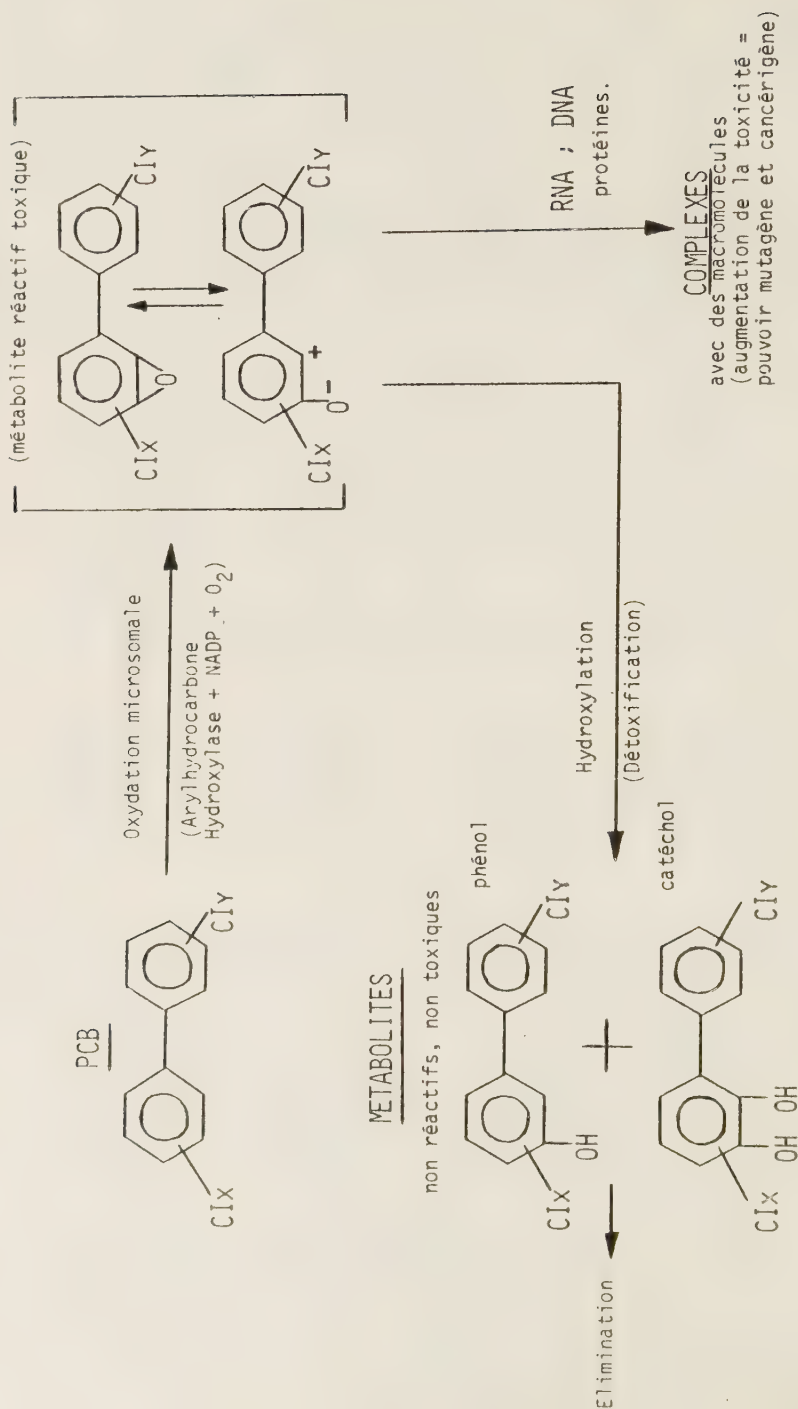


FIGURE 5 : MÉTABOLISME DES PCB : PASSAGE PAR UN STADE INTERMÉDIAIRE ARENE-OXYDE.

des composés activés transitoires, les arène-oxydes (voir figure 4d). Ces composés sont très dangereux, puisqu'ils peuvent se lier à des macromolécules cellulaires fondamentales - tels les acides nucléiques et les protéines - et en modifier l'activité (48, 88, 89) (voir figure 5). Nous reviendrons sur ce problème plus loin, mais signalons dès maintenant que toutes les espèces animales ne semblent pas former ces arène-oxydes en proportions identiques, ce qui pourrait expliquer les différences interspécifiques dans la sensibilité aux PCB.

+ Elimination : - Urines et fèces : après administration expérimentale de PCB par voie orale, la plupart des auteurs constatent que leur élimination sous formes hydroxylées se fait surtout dans les fèces, directement ou via la bile, et beaucoup moins dans l'urine (6, 29, 104). Par exemple, PETERSON et al. (80) administrent à des rats, par une sonde gastrique, 50 ppm de deux PCB triciés purs, un hexachlorobiphényle et un tétrachlorobiphényle. Ils constatent que l'élimination fécale du TCB correspond à 40 % de la dose ingérée, contre 1,7 % par voie urinaire. Ils constatent également que le niveau d'excrétion biliaire dépend de la structure du PCB : 0,5 % de la dose de l'hexachlorobiphényle passe dans la bile en 24 h., contre 42 % de la dose du TCB.

Malgré tout, l'élimination des PCB reste faible (10 à 30 %) lors d'absorption de fortes doses dans des conditions expérimentales. Elle est encore bien plus réduite lors d'une contamination répétée par de faibles concentrations, comme c'est le cas dans les conditions naturelles.

- Lait : SASCHENBRECKER et al. (91), ont administré à des vaches 10 et 100 ppm d'Aroclor 1254 par voie orale. Ils ont constaté que le PCB apparaît dans le lait 24 h. après, à raison de - respectivement : 6,27 et 74,5 mg/l ; des traces de PCB persistaient dans le lait 50 jours plus tard. Avec un apport quotidien de 200 mg d'Aroclor 1254 chez des vaches, une concentration stable de 61 ppm dans les matières grasses du lait et de 42 ppm dans la graisse corporelle a été observée en 10 jours par FRIES et al (31). La présence de PCB dans le lait lors d'expérimentations a été retrouvée chez le rat (24, 104), les macaques (5), la truie (37). Chez la femme, dans les conditions naturelles, le lait contient des PCB, que ce soit aux U.S.A. (40 à

100 ppb) (92), au Japon (120), en Pologne : 0,33 ppm en moyenne (JUSZKIEWICZ et al., cité par le rapport de l'O.M.S. (77) . TAKAGI et al. (104) donnent des PCB marqués par voie orale à des rates gestantes puis pendant l'allaitement. Ils notent que, si le transfert des PCB aux foetus par voie transplacentaire représente moins de 0,28 % de la dose absorbée par la rate, ce transfert passe à 2 % chez les nouveaux nés par le lait. Les auteurs constatent aussi que les rates allaitantes ont des concentrations en PCB dans leurs organes infiniment plus faibles que les rates qui n'allaitent pas : cela montre bien que le lait est un exutoire important pour les PCB.

L'importance du passage dans le lait est retrouvée par MASUDA et al. chez la souris (64) : ces auteurs ayant administré par voie orale différentes concentrations de Kanéchlor 500 à des souris depuis le jour de l'accouplement jusqu'au 18^e jour de la gestation, et ayant sacrifié ces animaux ensuite, retrouvent respectivement les concentrations suivantes dans le corps entier, le foie et les foetus : 6 à 16 % ; 0,8 à 3 % ; 0,1 à 0,2 % de la quantité totale de PCB absorbée. Par contre, d'autres animaux ayant reçu le PCB jusqu'à ce que les jeunes aient 5 semaines, on retrouve chez ces derniers des concentrations plus de 100 fois supérieures à celles décelées chez les nouveaux-nés.

+ Passage transplacentaire : Le passage de PCB de la mère gestante aux foetus a été démontré dans différentes espèces. Rappelons les études de TAKAGI et al. et de MASUDA et al, citées ci-dessus, où les auteurs constatent un faible passage transplacentaire chez la rate et la souris : moins de 0,28 % de la dose reçue par la mère dans le premier cas et 0,1 % dans le second. Chez le rat, on a aussi démontré l'existence d'un transfert des PBB (1) et de la dioxine (116).

ALLEN et BARSOTTI mettent en évidence des hypoplasies profondes des organes lymphoïdes de Macaques nouveaux nés, avec des doses aussi faibles que 2,5 ppm administrées à la mère pendant la gestation (5). Chez le chien beagle et chez le porc, COUVILLION, EARL et VAN LOO retrouvent aussi ce transfert placentaire, avec l'Aroclor 1254 qui se concentre dans le foie des foetus (25).

Chez la vache, un tel passage a été démontré avec l'Aroclor 1254 (81) qui est d'ailleurs présent en concentrations plus fortes dans les reins du fœtus que chez la mère. Cette concentration des PCB chez le fœtus a été retrouvée par GRANT et al. chez le lapin, avec l'Aroclor 1254 également, mais non avec le 1221 comme le signale le rapport de l'OMS (77).

Par contre, NISHIMURA et al. travaillant sur des organes fœtaux et néonataux humains (71) signalent qu'il n'existe pas de concentration du DDE chez les fœtus, qui en comportent des quantités identiques à celles que l'on peut trouver chez les mères. Les PCB n'ont d'ailleurs pas été retrouvés chez ces fœtus.

Le passage transplacentaire du Kanechlor 400 a été démontré dans le cas du "Yusho oil disease".

On peut donc dire que ce phénomène existe dans la plupart des espèces, plus ou moins développé suivant les substances envisagées, puisque les composés plus chlorés (Aroclor 1254) semblent passer en plus grande quantité que les composés moins chlorés (Aroclor 1221), grâce à leur meilleure liposolubilité.

+ Passage dans les oeufs : Le passage des PCB dans les oeufs de différentes espèces d'oiseaux domestiques et sauvages a été souvent démontré indirectement par les lésions qu'ils provoquent sur les embryons ou les poussins, comme nous le verrons plus loin. Plus directement, l'analyse des oeufs de volailles ayant reçu des PCB dans leur alimentation a été effectuée par plusieurs auteurs. SALLY et al font consommer à des poulettes de l'Aroclor 1254 aux doses de 0, 1, 10 et 100 ppm dans les aliments pendant 24 jours. Ils déterminent alors les concentrations dans la graisse, le foie, les muscles et les oeufs. Celles-ci sont respectivement de 40, 4, 1 et 1 (102). Par ailleurs, JENSEN et SUNDSTROM ont trouvé que 33 % d'une dose orale d'hexachlorobiphényle administrée à des caillies étaient excrétés dans les oeufs en 10 jours (77). Une autre mise en évidence très directe du passage des PCB dans les oeufs a été obtenue par NAGAO et HCSOYA (70), par distribution à des caillies de PCB marqués au C_{14} et autoradiographie du corps entier après 24 h : on constate l'accumulation de la radioactivité dans les follicules et le jaune des oeufs,

alors que l'on n'en retrouve pas trace dans le blanc. L'étude récente de HARRIS et al. (39) est intéressante car, utilisant différents Aroclors par voie orale chez des poulettes, pendant 8 semaines, elle montre que le passage dans les oeufs dépend du temps de rétention des PCB dans l'organisme, donc de leur degré de chloration qui détermine la liposolubilité. Pour les PCB dont le temps de rétention est inférieur à celui du DDE, l'accumulation dans les oeufs est inférieure à la moitié de celle de l'aliment. Par contre, si le temps de rétention du PCB est supérieur à celui du DDE, on le retrouve dans l'oeuf en concentration égale à celle de l'aliment.

En ce qui concerne les oiseaux sauvages, plusieurs enquêtes ont démontré la présence d'organochlorés, notamment de PCB dans les oeufs. C'est surtout le cas des oiseaux piscivores ou des rapaces (77, 85). Par exemple, BLUS L.J. et al. (9) ont travaillé de 1969 à 1973 sur les résidus des oeufs de pélicans bruns. Ils y ont retrouvé 10 organochlorés (dont des PCB) et 10 métaux lourds : la concentration globale en organochlorés était 10 fois supérieure dans les oeufs à ce qu'elle était chez les poissons ingérés par les parents : c'est un exemple de concentration entre deux maillons de la chaîne alimentaire.

Comme le lait des femelles de mammifères, on constate donc que les oeufs sont une voie d'excrétion majeure chez les femelles des oiseaux.

+ Influence de la structure sur la rétention : On sait que la durée de rétention des PCB est fonction de la teneur en lipides des tissus, mais surtout de leur aptitude à être métabolisés. En ce qui concerne cette dernière, il est admis que la teneur en chlore de la molécule est le facteur déterminant : la nature et la quantité des métabolites diminue quand le degré de chloration augmente ; cela explique que les tissus restent plus riches en composés les plus chlorés (voir figures 6 a et b). Par exemple, BAILEY et BUNYAN cités par le rapport de l'OHS (77) ont trouvé que les temps de demi-élimination de divers PCB dans la graisse de caille et de pigeon après l'arrêt d'un traitement à l'Aroclor 1242 ou à l'Aroclor 1254 était de 50 jours dans le premier cas, et de 125 jours dans le second. Dans l'étude de PETERSON et al (80), déjà citée plus haut,

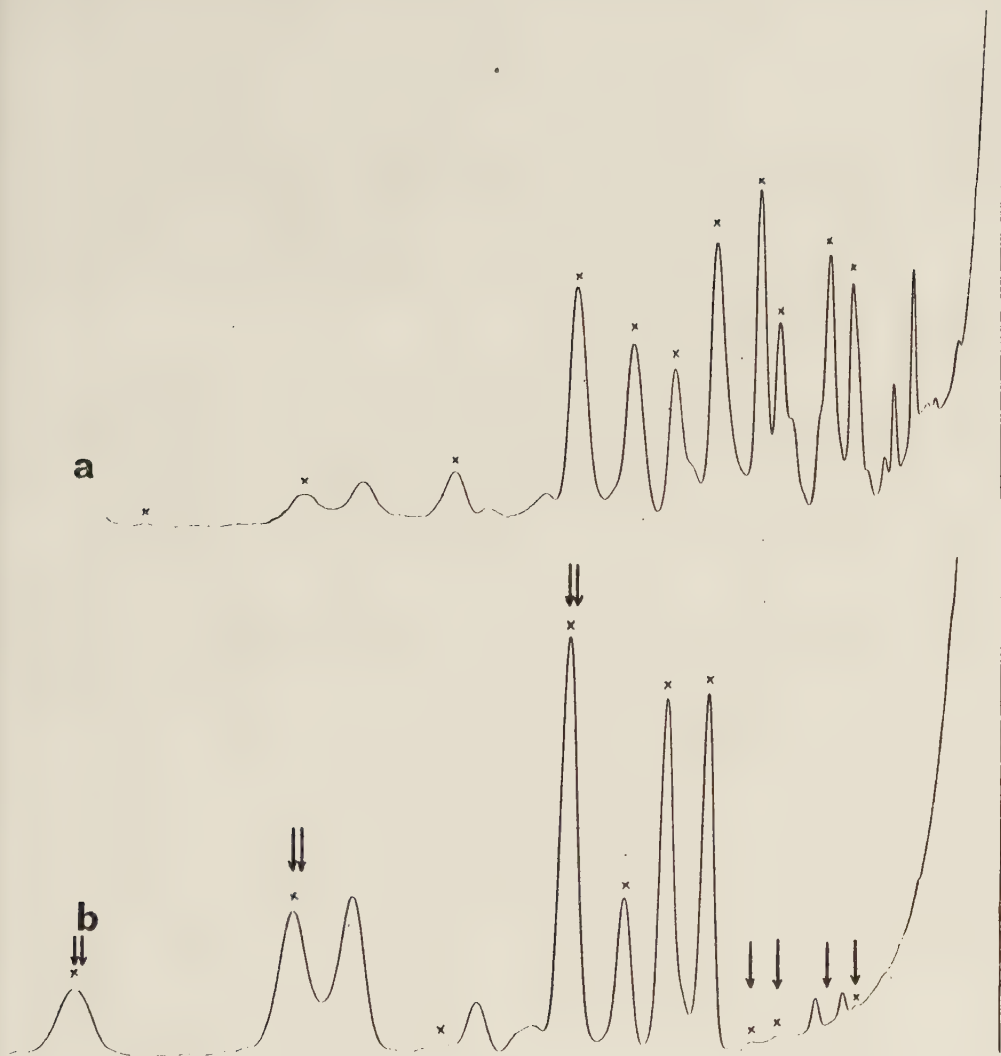


FIGURE 6 : Comparaison des chromatogrammes de DP_5 étalon (5 ng) (a) et d'un extrait de foie de souris des lots 250 ppm (b).
 (Pour a et b : atténuation = 16) Les pics marqués d'une croix sont ceux pris en compte pour le dosage du DP_5 .
 On constate en b, que, par rapport au DP_5 étalon a, le foie des souris contient plus de composés très chlorés ($\Downarrow$) et moins de composés peu chlorés ($\downarrow$) = les premiers s'accumulent et les seconds sont éliminés.

ces auteurs comparaient la vitesse d'excrétion de deux PCB purs tritiés : un hexachlorobiphényle et un tétrachlorobiphényle ; la plus nette différence entre ces deux composés se situait au niveau de l'excrétion biliaire : chez des rats mâles, 0,5 % de la dose d'hexachlorobiphényle était excrétée en 24 h. alors que cette quantité était de 42,2 % pour le tétrachlorobiphényle.

Les auteurs mettent ce phénomène sur le compte, non d'une différence d'absorption digestive de ces deux produits, mais d'un métabolisme plus lent du composé hexachloré ; les deux atomes de chlore supplémentaires en position 4 et 4' entraînent l'absence de carbones non substitués, supports d'un métabolisme rapide.

Ayant donné à des souris, pendant 20 jours, 10 ppm de 6 isomères différents d'un même PCB, le tétrachlorobiphényle, MIZUTANI et al (67) constatent que le degré d'accumulation varie considérablement d'un composé à l'autre, bien qu'ils aient tous le même degré de chloration ; par exemple, il n'y a aucun résidu correspondant au 2, 6, 2', 6' TCB, car il est sans doute très vite métabolisé. Les mêmes auteurs reprennent l'expérience avec seulement 3 TCB différents, mais en administrant en plus aux souris 200 ppm de phénobarbital, dont on connaît le pouvoir d'induction des systèmes enzymatiques microsomaux. Or, la présence de phénobarbital n'augmente pas la vitesse de dégradation des TCB. Les auteurs concluent que la diminution des PCB dans l'organisme et leur demi-vie biologique, dépendent plus de leur vitesse de libération à partir de la graisse que de leur vitesse de métabolisme hépatique. Cela explique en partie que les grandes différences entre les demi-vies biologiques des différents isomères d'un même PCB ne soient pas nécessairement en rapport avec le type de substitution.

Cette évocation du devenir des PCB dans l'organisme nous permet d'envisager maintenant les retentissements que la présence de ces substances peut avoir sur la santé.

ESPECE	VOIE D' ADMINISTRATION	NATURE DU PCB	DL 50 EN GRAMMES DE PCB PAR KG DE POIDS CORPOREL	REFERENCE
RAT	Orale	Araclor 1221 Araclor 1262	4 11,3	} COMPAGNIE MONSANTO, 1972
RAT	Intra-veineuse	Aroclor 1254	0,36	LINDER et al, 1974
RAT	Orale	Aroclor 1254	4 à 9	KIMBROUGH et al, 1972
SOURIS	Intrapéritonéale	Tétrachlorobiphényle Hydroxy - 5 tétrachlorobiphényle	2,15 0,43	} YAMAMOTO et YOSHIMURA, 1973
CANARD	Orale	Aroclors 1242 et 1254	> 2	TUCKER et CRABTREE 1970
DIFFÉRENTS OISEAUX	Orale	Aroclors 1232 et 1262	0,5 à 5	HEATH et al, 1970
TRUITE ARC-EN-CIEL	Orale	Aroclors 1242 et 1260	> 1,5	STALLING et MAYER, 1972

TABLEAU 1 : DOSES LÉTALES 50 % DANS DIFFÉRENTES ESPÈCES ANIMALES, SELON LA VOIE D'ADMINISTRATION
ET LA NATURE DU PCB.

1.5.2. Toxicité des PCB :

Les PCB ne semblent être que rarement responsables de toxicité clinique, mais ils posent de graves problèmes au niveau des effets biologiques à long terme, plus difficiles à analyser. Nous allons étudier successivement ces deux aspects.

+ Toxicité clinique (voir tableau 1)

- Chez les Primates : Nous avons déjà cité, en ce qui concerne l'Homme, le cas de japonais contaminés par le Kanechlor 400, et dont les symptômes constituent le "Yusho oil disease" : ils souffrent de signes cutanés (dermite, éruptions, pigmentation brune de la peau et des ongles, chute de cheveux), hépatiques (ictère, porphyrinurie), digestifs (nausées, vomissements) et nerveux (fatigue, céphalées) (35). Une bronchite chronique persistante a aussi été signalée par SHIGEMATSU et al (96-97). Certains de ces symptômes ont été retrouvés chez des enfants nés de mères atteintes du "Yusho".

En ce qui concerne les singes, dans les nombreuses études réalisées, les symptômes observés sont assez similaires à ceux du "Yusho" : avec 100 ou 300 ppm d'Aroclor 1248 dans l'alimentation de Macaques adultes, pendant plusieurs mois, ALLEN (3) a observé une mortalité très élevée, précédée d'une chute pondérale, d'alopécie, d'oedèmes de la face avec hyperkératose, d'une forte hypertrophie du foie, et d'une gastrite hyperplasique et ulcéreuse très grave. Avec des doses quotidiennes de 2,5, 5, et 25 ppm pendant les mêmes périodes, il obtient seulement une anémie et une gastrite sévères, sauf à la dose de 25 ppm où l'oedème facial et l'alopécie peuvent précéder la mort. Les symptômes peuvent persister plus de deux ans. De plus, les femelles traitées sont fécondables seulement dans la proportion de 12,5 % par rapport à 90 % pour les femelles témoins. Mais FELT et al. n'obtiennent aucun signe clinique chez de jeunes Rhésus ayant reçu 5 ppm de 2, 5, 4' TCB pendant 84 jours (29) ; cela peut être dû à une toxicité moindre de ce PCB pur par rapport au mélange commercial que représente l'Aroclor, ou au temps de contamination plus bref.

- Chez les rongeurs : chez le rat, la toxicité aiguë des PCB est faible : la DL_{50} varie de 4g/kg, avec l'Aroclor 1221, à 11,3 g/kg pour l'Aroclor 1262

(PANEL on Hazardous Trace Substances, 1972, cité par le rapport de l'OMS - 77) (voir tableau 1). La mort survient chez le rat avec 1000 ppm d'Aroclor 1254 et 1260 pendant 8 mois (5), alors que la même dose n'entraîne chez la souris qu'une hépatomégalie (105). Chez les rongeurs fortement intoxiqués, on retrouve des symptômes proches de ceux des primates : perte de poids, alopecie, ulcération des muqueuses digestives (54), troubles respiratoires (96, 97), mais aussi ataxie, larmoiement, diarrhée, goîtres (7).

- Chez les bovins : les accidents dûs aux PCB sont assez rares. Un cas de toxicité dermique a été rapporté par VOS, en 1971 (111) : dans un élevage, les vaches présentaient un amaigrissement, une diminution de la sécrétion lactée et des lésions cutanées d'hyperkératose : cette pathologie a pu être mise en rapport avec la présence d'un tapis décrottoir en caoutchouc, riche en PCB, sur le sol des étables. Mais seule, une diminution de la sécrétion lactée a marqué les intoxications de bovins aux U.S.A., en 1970 et 1971, dûes à un ensilage contaminé par la peinture des silos.

- Chez le porc : On ne connaît que des cas d'intoxication expérimentale : PLATONOW et al (82) travaillent sur des porcelets de 4 semaines, auxquels ils donnent 250 ppm de différents Aroclors jusqu'à 12 semaines : les auteurs ne notent qu'une nette augmentation du gain de poids : 30 % avec l'aroclor 1232, 10 % avec l'Aroclor 1242, et 50 % avec l'Aroclor 1254. Ils attribuent donc à ces substances un rôle de facteur de croissance.

Mais d'autres auteurs ne retrouvent pas ces résultats : HANSEN, WILSON et BYERLY (38), donnent 20 ppm seulement de PCB à des porcs et des moutons depuis le sevrage jusqu'à la taille commerciale : ils constatent au contraire une diminution de l'efficacité des aliments et du gain de poids, ainsi qu'une augmentation de la fréquence des pneumonies et des ulcères gastriques chez les porcs.

Une importante toxicité de l'Aroclor 1254 est retrouvée par MINIATS et al (66), sur des porcelets germfree de 14 jours, recevant diverses concentrations de ce PCB : en dessous de 25 ppm, le produit déclenche une diarrhée, des érythèmes du nez et de l'anus, et une distension abdominale. Au-dessus de cette dose, les symptômes vont jusqu'à l'incoordination motrice, le coma et la mort en 20 jours. Les auteurs en déduisent que la plus grande sensibilité de ces animaux par rapport aux porcs normaux et plus âgés vient à la fois de l'absence de flore intestinale et de la

faible quantité d'enzymes hépatiques chez ces sujets très jeunes.

Enfin, HANSEN et al (37) administrant 20 ppm d'Aroclor 1242 à des truies pendant leur gestation et l'allaitement, constatent - outre la baisse de natalité signalée plus haut, une plus grande fréquence d'ulcères gastriques et d'infections chroniques. Les truies contaminées sont moins résistantes aux agressions que les sujets témoins. Cela est en rapport avec le pouvoir immunodépresseur des PCB dont nous reparlerons plus loin.

La toxicité embryofœtale est retrouvée dans cette espèce par COUVILLION et al (25), qui distribuent 1, 10 et 30 ppm d'Aroclor 1254 chaque jour à des truies gestantes, et observent des anomalies fœtales diverses : les PCB peuvent donc exercer une action tératogène.

- Chez les oiseaux : La toxicité aiguë orale des Aroclors 1242 et 1254 pour le canard colvert est faible, la DL_{50} étant dans les deux cas supérieure à 2g/kg (TICKER et CRABTREE, 1970, cité par le rapport de l'OMS (77) (voir tableau 1).

En ce qui concerne la toxicité chronique des PCB chez les oiseaux, des études ont été entreprises par VOS et KOEMAN (107) sur la toxicité chez des poulets de trois composés du commerce, tous trois à 60 % de chloration : le Phénoclor DP6, le Clophen A60 et l'Aroclor 1260. La dose quotidienne est de 400 ppm, administrée par voie orale, pendant 60 jours. Les deux premiers de ces composés ont provoqué une mortalité de 100 % avec, respectivement, des temps de survie de 24,3 et 20,5 jours. Mais pendant la même période, l'Aroclor n'a tué que 15 % des animaux.

La mortalité s'accompagnait de lésions caractéristiques : hydropéricarde, oedèmes dutanés, ascite, nécrose hépatique. Des lésions comparables, quoique moins prononcées, avaient déjà été mises en évidence dans certains élevages. Dans l'attente de son identification, le responsable avait été baptisé "chick oedema factor". Une étude ultérieure des mêmes auteurs (108) a montré que les deux mélanges les plus toxiques étaient caractérisés par la présence d'impuretés très nocives : tétra et pentachlorodibenzofuranes, auxquels ces auteurs attribuent la majorité du pouvoir toxique des préparations commerciales de PCB et qu'ils identifient au "chick oedema factor". Ces substances n'ont pas été mises en évidence dans l'Aroclor, qui est aussi le moins toxique.

La variation de sensibilité interspécifique est également très nette chez les oiseaux : HOLLEMAN et al., en 1976 (43) provoquent une forte chute du gain de poids, des oedèmes et de la mortalité chez des poulets recevant 75 et 150 ppm d'Aroclor 1242 pendant 4 semaines, alors que des dindonneaux ne montrent aucun symptôme dans les mêmes conditions. Cette variation de sensibilité est corroborée par les résultats de HEATH et al. (voir tableau 1), qui trouvent des DL_{50} variant de 0,5 à 5 g/kg pour différentes espèces d'oiseaux : le Colin de Virginie est de loin le plus sensible, alors que la caille japonaise est assez résistante ; ces deux espèces sont pourtant très voisines. Les Anatidés (canards) sont nettement plus résistants que les gallinacées (poules, faisans, cailles).

+ Autres effets biologiques : Les intoxications cliniques dues aux PCB que nous venons d'envisager sont, soit accidentelles et donc rares, soit expérimentales. Il n'en est pas de même des formes inapparentes ou frustes d'intoxications, induites par les PCB répandus à faibles concentrations dans tous les milieux.

Nous allons distinguer les effets toxiques des PCB autres que cliniques, à trois niveaux : action sur les fonctions hépatiques, sur les fonctions de reproduction, et effets cancérigènes.

- Action des PCB sur les fonctions hépatiques : L'action majeure des PCB administrés de façon prolongée à des mammifères ou des oiseaux est l'induction enzymatique : ils stimulent fortement la synthèse des enzymes en particulier celles de la fraction microsomale du foie. Certains auteurs considèrent même l'Aroclor 1254 comme l'un des plus puissants inducteurs enzymatiques connus à ce jour (TRUHAUT et al,) Ce phénomène est devenu une certitude depuis qu'il a été retrouvé par de nombreux auteurs dans diverses espèces. Nous allons envisager successivement les principaux caractères de l'induction enzymatique.

- Elle s'exerce vis à vis de nombreux systèmes enzymatiques : des méthodes biochimiques et histochimiques ont permis de la mettre en évidence à différents niveaux (voir tableau ci-dessous), mais il faut souligner l'importance majeure de l'induction des enzymes d'hydroxylation microsomale hépatiques : hydroxylases à Cytochrome P.450 et NADPH-Cytochrome C réductases (voir figure 4 a)

SYSTEMES ENZYMATIQUES INDUITS PAR LES PCB	REFERENCES
Hydroxylases à Cyt. P. 450 et à Cyt. b5 microsomales	4, 86, 106
NADPH. Cyt. C réductases microsomales	12
N et O déméthylases	4, 11, 12, 19, 21, 47.
Nitroréductases	4, 15
Pentobarbital hydroxylase	11
Acétanilide hydroxylase	11
Arylhydrocarbone hydroxylase	15, 24
Cholinestérases	76
Aminolévulinate déshydratase	94
Acide aminolévulinique synthétase (ALA synthétase)	109
UDP glycuronyltransférase	100

Mais tous les systèmes enzymatiques ne sont pas induits par les PCB. ALLEN et al. (6), puis ALLEN et ABRAHAMSON (4) ont par exemple montré qu'il n'y a aucune augmentation de l'activité de la glucose-6-phosphate deshydrogénase en présence de PCB. KURIYAMA et al. (cités par FUJIMARA et KURIYAMA (32) constatent même une diminution de synthèse de cette enzyme, ainsi que l'ATPase et de la 6 phosphogluconate deshydrogénase. Une exception intéressante est en outre étudiée par HOLUB et al. (44) : ces auteurs ne retrouvent pas d'action des PCB sur les enzymes de la

biosynthèse des phospholipides et des triglycérides au niveau des microsomes hépatiques : cela prouve que l'induction de ces enzymes ne peut pas être la cause de l'accumulation des lipides dans les hépatocytes des animaux contaminés par les PCB ; l'origine de ce phénomène fréquemment observé serait donc à rechercher dans une altération du catabolisme ou du transport des lipides hépatiques plutôt que dans un accroissement de leur synthèse.

- Elle est fonction du degré de chloration du PCB :

Cela a été clairement montré par CECIL, HARRIS et BITMAN (19) chez le poulet, en ce qui concerne la N-déméthylase et par CHEN et DUBOIS (21) chez le rat, pour la même enzyme et la O-déméthylase. Ce phénomène ne s'applique pas à toutes les enzymes : SCHMOLDT et al. (94) le retrouvent dans le cas des monooxygénases microsomiales, mais pas dans celui de l'aminolévulinase déshydratase : le degré de chloration du PCB n'influe en rien sur l'intensité de l'induction de cet enzyme.

- Elle s'instaure rapidement :

Le temps de latence de l'induction est faible. BRUCKNER et al (11) ont étudié l'influence des PCB sur la déméthylation de l'aminopyrine. Ils ont observé l'induction de l'enzyme en cause un jour seulement après le début de la contamination. Ils en déduisent que l'ingestion de très faibles doses de PCB peuvent augmenter de façon significative, et sans doute prolongée, le métabolisme des médicaments.

- Elle est probablement précédée d'une courte phase de dépression :

CECIL, HARRIS et BITMAN (19), travaillant sur la caille japonaise, ont montré qu'une contamination par les PCB double ou triple le temps de sommeil de ces animaux au pentobarbital, pendant les 2 heures qui la suivent ; 24 heures après, le temps de sommeil des cailles contaminées est le même que celui des témoins, et c'est seulement après 48 heures qu'il diminue. Cela semble prouver que les PCB agissent en deux temps : le premier s'instaure dès l'absorption digestive du produit et son arrivée dans le foie : il consiste en une dépression de certains systèmes enzymatiques de l'hépatocyte, d'où le ralentissement du métabolisme du pentobarbital ; le second intervient après quelques heures, et consiste au contraire, en l'induction proprement dite qui entraîne, d'abord le retour à la normale de la synthèse enzymatique, puis son augmentation,

donc l'accélération de la dégradation de l'anesthésique. Cet exemple est le seul, actuellement, pour les PCB, mais il est fréquent avec d'autres agents inducteurs.

- Elle est très lentement réversible :

L'induction enzymatique due à un composé exogène est toujours réversible, mais plus ou moins rapidement selon la vitesse de métabolisme et d'élimination de la substance en cause. Dans le cas des PCB, les biotransformations sont réduites, et le produit tend à s'accumuler dans l'organisme, ce qui explique la lenteur de la réversibilité du phénomène. Les travaux de RIVIERE et al. (86) le montrent bien : ils distribuent 1 ou 5 mg de DP_5 par jour, pendant 40 jours, à des cailles japonaises, et ils constatent que l'activité de 5 enzymes est stimulée dans le foie des jeunes issus de leurs oeufs, et que ce phénomène persiste plus d'un mois après que la contamination des mères ait été arrêtée.

- Elle est croisée :

L'augmentation de l'activité enzymatique n'est pas limitée à une réaction métabolique, mais elle concerne l'ensemble des substances dont l'enzyme catalyse la synthèse ou la dégradation. Ce phénomène est très important car il explique une bonne part des effets biologiques des composés doués d'un pouvoir d'induction enzymatique. En effet, ces composés provoquent l'augmentation du catabolisme ou de l'anabolisme d'un grand nombre de substances exogènes et endogènes dans l'organisme, modifiant ainsi leur durée d'action et leur concentration.

Un exemple de substances exogènes dont le métabolisme est modifié par les inducteurs enzymatiques est celui des médicaments. BRUCKNER et al. (11) signalent par exemple que, chez le rat ayant reçu des PCB, le temps de sommeil induit par le pentobarbital est significativement diminué, prouvant que cet anesthésique est métabolisé plus rapidement. Par ailleurs, BUTSCHAK et al. (15) constatent une dégradation accélérée de l'éthylmorphine chez le rat contaminé.

Les vitamines, particulièrement celles que l'on retrouve au niveau du foie, ont des concentrations modifiées chez les animaux traités

au PCB. CECIL et al. (17) constatent une diminution de 50 % du stockane de la vitamine A dans le foie des rats et des cailles contaminées, et KURIYAMA et al. (cités par FUJIWARA et KURIYAMA - 32) notent une diminution de la forme active de la vitamine B6 hépatique. Par contre, ces mêmes auteurs n'observent pas de modification de la concentration en vitamine B2, mais constatent - toujours dans le foie - une accumulation significative d'acide L-ascorbique. Il est probable que l'induction de certains systèmes enzymatiques est à la base de ces modifications : induction des systèmes de destruction pour les vitamines B1 et B6, et induction des systèmes de synthèse pour l'acide L-ascorbique. Quant aux enzymes qui règlent le métabolisme de la vitamine B2, elles semblent insensibles à l'action des PCB, au moins chez le rat et la caille.

Mais les PCB modifient aussi le métabolisme de substances endogènes, en particulier des hormones. RISEHOUGH (77) a montré chez le pigeon, que l'injection intramusculaire de 20 ppm d'Aroclor 1262 augmentait très nettement la dégradation de l'oestradiol. Il a constaté que l'activité des PCB sur le métabolisme de ce stéroïde sexuel était cinq fois supérieure à celle du DDT. FREEMAN et IDLER (cités par RAFFENOT - 85) obtiennent in vitro une stimulation de l'hydroxylation de la testostérone par le tissu testiculaire de l'Omble de fontaine. DERR (cité par RAFFENOT - 85) met en évidence un fort accroissement du catabolisme de la progestérone chez la rate après injection intrapéritonéale d'Aroclor 1254. Enfin, SIVARAJAH et al (99 - 100) montrent, dans deux études effectuées sur des poissons, que les PCB entraînent une forte baisse de la concentration des stéroïdes sériques (androgènes, oestrogènes, corticostéroïdes).

En ce qui concerne les hormones thyroïdiennes, les PCB semblent, selon SÖDERGREN et ULFSTRAND (cités par KECK - 49), entraîner chez les oiseaux, même à faible dose, une excitation qu'ils attribuent à de l'hypertyroïdisme, et qui pourrait, selon eux, induire des troubles du comportement migratoire. Divers travaux (cités par RAFFENOT - 85) semblent prouver que, chez les poissons aussi, les PCB stimulent la synthèse des hormones thyroïdiennes. Ce n'est pas le cas chez les mammifères : COLLINS et al. (22) montrent que l'administration orale de PCB à des rats entraîne une nette diminution du taux de thyroxine sérique. Les travaux de BASTOMSKY (7) font apparaître une hypertrophie de la thyroïde (goitre), associée à une faible concentration sérique de thyroxine et à un taux élevé de thyrotropine, chez des rats ayant reçu des PCB. Les PCB seraient

donc des substances goitrogènes : ils induisent les systèmes enzymatiques de dégradation des hormones thyroïdiennes (d'où leur faible taux sérique), ce qui lève la rétroaction négative normalement exercée par ces hormones sur l'antéhypophyse ; celle-ci, libérée, sécrète davantage de thyrotropine (d'où la forte concentration sérique) qui va stimuler la thyroïde et induire son hyperplasie.

Le cortex surrénal est, lui aussi, affecté par l'action des PCB. L'étude de SIVARAJAH (99, 100) nous a déjà montré que le taux des corticostéroïdes sériques diminue après administration de PCB à des poissons. Des travaux effectués sur le faisan par DAHLGREN et sur la truite par GRANT (cités par KECK - 49) montrent que les PCB peuvent entraîner l'induction des systèmes de dégradation enzymatique des hormones corticosurrénaliennes, notamment du cortisol. Ces hormones intervenant de façon prépondérante dans les phénomènes de réponse adaptative aux stress et aux conditions de milieu, les PCB diminueraient l'aptitude des animaux à y faire face. Ce problème est aggravé par la dépression immunitaire dont les PCB sont la cause, et sur laquelle nous reviendrons.

Toujours dans le cadre des composés endogènes dont le métabolisme est modifié par les PCB, on peut citer les lipides : L'administration des PCB est connue pour accroître le nombre de gouttelettes lipidiques dans les hépatocytes des souris, des singes (72), et des rats (54), et pour altérer le niveau des triglycérides et des phospholipides du foie chez ces mêmes animaux. D'après HOLUB et al. (44) l'induction des enzymes microsomiales responsables de la biosynthèse des lipides n'est pas la cause primaire de la modification de leur métabolisme puisque des résultats - positifs in vitro - ne sont pas reproduits in vivo. Ces auteurs suggèrent donc plutôt une altération de leur transport ou de leur catabolisme.

Enfin, une porphyrie a été notée dans de nombreux travaux. Elle consiste, d'une part, en une augmentation de la teneur en coproporphyrine et en protoporphyrine des fèces des animaux contaminés (107, 112),

et d'autre part, en une fluorescence caractéristique du tissu hépatique aux ultraviolets, aussi bien au niveau macroscopique qu'au niveau histologique (47, 72, 94, 107, 108, 110) ; ce phénomène existe dans la plupart des espèces, sauf le cobaye (113) et les oiseaux carnivores (KOEMAN et al., 1972, cités par VOS et VAN DRIEL-GROOTENHUIS - 113);

cette augmentation de la biosynthèse des porphyrines a été associée à un accroissement de l'enzyme qui catalyse cette réaction : l'acide aminolévulinique - synthétase (109). C'est encore un exemple d'induction enzymatique agissant sur un composé endogène.

- Action des PCB sur les fonctions de reproduction : L'action néfaste des PCB sur l'ensemble des fonctions de reproduction des animaux contaminés est sans doute d'origine complexe ; l'induction enzymatique et ses nombreuses répercussions sur les hormones sexuelles y jouent sans aucun doute un rôle prépondérant. Mais les PCB troublent aussi la reproduction par une action plus directe, à la fois au niveau des récepteurs des oestrogènes, sur lesquels ils peuvent se fixer grâce à une configuration spatiale voisine, et au niveau hypothalamo-hypophysaire.

Les PCB augmentent la dégradation des oestrogènes et gênent leur fixation aux récepteurs : les conséquences de ces phénomènes sont particulièrement évidentes chez les oiseaux, puisque, chez eux, le métabolisme du calcium est lié à celui des hormones sexuelles : l'intoxication par les organochlorés, et particulièrement par les PCB, se traduit par une diminution de l'épaisseur de la coquille des oeufs, ou par des anomalies, voire par la disparition de cette coquille, surtout chez les espèces sauvages. De nombreux auteurs imputent aux PCB les troubles de la reproduction et les baisses de natalité observées chez certains rapaces (faucon pellerin, orfraie, faucon à queue rouge, aigle pêcheur...) et chez certains oiseaux piscivores (cormorans, pélicans, hérons...) dans diverses régions du monde. Par exemple, BLUS (9) signale que les coquilles des oeufs des pélicans bruns de Caroline du Sud étaient nettement plus fines de 1969 à 1973 qu'avant 1947 ; cette période a correspondu à un pic de contamination du milieu par les PCB.

Mais les modifications de la coquille ne sont pas les seuls phénomènes observés au niveau de la reproduction lors de contamination des oiseaux par les PCB. LILLIE et al. (60) ont donné 5, 10 ou 20 ppm de différents Aroclors à des poulettes ; si le taux de ponte, le poids des oeufs, l'épaisseur des coquilles, la consommation d'aliment et le poids des adultes ne sont pas affectés, on assiste par contre à une forte

chute du taux d'éclosion avec 10 et 20 ppm des Aroclors 1232, 1242 et 1248, avec, en outre des lésions d'œdème sur les embryons.

PLATONOW et REINHART (83) montrent l'influence de la dose de PCB reçue sur la contamination des embryons. Avec 50 ppm d'Aroclor 1254 distribué à des poulettes pendant 39 semaines, ils constatent une très forte chute à la fois du taux de ponte et du taux d'éclosion. A cette dose, le PCB agit donc sur la fonction de reproduction elle-même (taux de ponte) et sur la viabilité de l'embryon (taux d'éclosion) ; avec une dose de 5 ppm, la chute du taux de ponte ne s'accompagne pas d'une diminution du taux d'éclosion ; autrement dit, à cette dose, le PCB déprime la fonction de reproduction de la volaille adulte, sans agir sur l'embryon.

BRIGGS et HARRIS (10) contaminent des poulets avec de l'Aroclor 1242 pendant une semaine, à 50 ppm, provoquant ainsi une chute du taux d'éclosion de 73 % par rapport aux témoins. HILL et al. (42), travaillant sur des cailles japonaises, et leur administrant 10 ppm de ce même PCB pendant 40 jours, observent seulement une diminution de l'épaisseur de la coquille de 5,2 % par rapport aux témoins. Les doses de PCB reçues dans les deux cas étant similaires (les cailles en reçoivent 5 fois moins, mais 5 fois plus longtemps), on peut penser que le poulet est plus sensible que la caille à l'action de ce PCB sur ses fonctions de reproduction.

Chez les poissons, les travaux de SIVARAJAH, déjà cités (99, 100) ont montré que l'action néfaste des PCB sur la reproduction existe aussi : ces auteurs ont mis en évidence des altérations histologiques graves des oocytes et des spermatozoïdes.

Les mammifères ne sont pas épargnés par cet aspect de la toxicité des PCB. C'est surtout le cas des mammifères marins dont l'abondant tissu adipeux en contient de fortes concentrations. Les PCB sont ainsi tenus pour responsables, avec les pesticides organochlorés, des perturbations survenues dans la reproduction des phoques de la baie de Botnie (HELLE et al. cités par RAFFENOT - 85) et des otaries de Californie (DELONG et al., cités par KECK - 49) chez lesquelles on constate résorption embryonnaire et naissances prématurées.

- Effets cancérogènes des PCB : Le rapport du "National Institute for Occupational Safety and Health", rédigé aux U.S.A. en 1976, suggérait qu'il peut exister une relation entre la fréquence des tumeurs de la peau et du pancréas chez l'homme et l'exposition professionnelle aux PCB. Mais le foie est, pour l'instant, le seul organe dans lequel on ait réellement pu mettre en rapport l'apparition de tumeurs et la contamination par les PCB.

ITO et al. (cités par le rapport de l'OMS, 77), ont donné à des souris différents mélanges commerciaux de PCB, à diverses concentrations; au bout d'un an, des nodules hyperplasiques étaient apparus sur le foie de 7 souris sur 12, et un carcinome hépatique chez 5 sur 12, surtout pour le composé le plus chloré et aux plus fortes doses.

Plusieurs autres travaux, cités par le rapport de l'OMS, montrent que des PCB tels les Aroclors 1254 et 1260, peuvent déclencher l'apparition de nodules néoplasiques ou de carcinomes hépatiques à des taux très significativement supérieurs à ceux que l'on observe chez les témoins, à condition d'être administrés pendant des périodes assez longues (4 à 20 mois) et à doses élevées (100 à 300 ppm).

KECK, ayant contaminé des souris pendant 4 mois avec 250 ppm de DP₅, a constaté l'apparition d'hépatomes chez plusieurs animaux (communication personnelle).

Mais il faut signaler que plusieurs auteurs constatent au contraire un effet inhibiteur important des PCB sur la croissance de certaines tumeurs expérimentales. KERKYLIE et KIMELDORF, dans deux études (52, 53) montrent tout d'abord que l'administration d'Aroclor 1254 à des rats, pendant 1 mois, avant inoculation de ces animaux avec des cellules de carcinosarcome de WALKER 256, diminue nettement la croissance des tumeurs ainsi induites. Dans un second temps, ils notent que l'administration répétée de ce PCB pendant le développement des tumeurs inhibe ce dernier : les tumeurs sont moins nombreuses, leur croissance est plus lente, et le temps de survie des animaux est considérablement augmenté ; certains rats montrent même une régression totale des néoplasmes : les tumeurs sont rejetées.

De même, KECK et al. (51), travaillant avec le DP₅ - équivalent de l'Aroclor 1254, ont étudié son action sur la sensibilité des souris contaminées à une tumeur liquide, l'ascite d'EHRlich, injectée sous la peau du dos. Ils constatent que le PCB ne diminue pas la résistance des animaux vis-à-vis de la tumeur, et même l'augmente aux doses de 10 et 50 ppm.

L'action mutagène et cancérigène des PCB n'est donc pas forcément cumulative avec celle d'autres substances toxiques : ils ne potentialisent pas leur cytotoxicité.

Les principaux aspects de la toxicité des PCB ayant été abordés, il faut, en conclusion, faire une remarque concernant leur origine. Des auteurs travaillant sur le sujet, se sont en effet demandés si le danger d'un mélange commercial de PCB ne résidait pas plus dans certaines impuretés de fabrication, les polychlorodibenzofuranes (PCDF ; voir 1.1. : structure et préparation des PCB), que dans les PCB eux-mêmes.

Les études fondamentales sur ce sujet ont été menées par l'équipe de VOS, en HOLLANDE. En 1970, VOS et KOEMAN (107), étudiant les lésions provoquées par les PCB sur les poulets, comparent l'action de trois préparations commerciales : le Phénoclor DP₆, le Clophen et l'Aroclor 1260, ayant tous le même degré de chloration : 60 %. Ils constatent des lésions plus importantes et plus rapides avec les deux premiers qu'avec l'Aroclor. La même année, VOS et al. (108) mettent en évidence, par des méthodes de chromatographie gazeuse et sur colonne, des PCDF dans les deux produits les plus toxiques, mais pas dans l'Aroclor. Enfin, en 1971, VOS et BEEMS (110), étudiant la toxicité générale de ces trois mêmes substances par application cutanée chez le lapin, retrouvent la relative innocuité de l'Aroclor par rapport aux deux autres produits. La même méthode est reprise en 1972 par VOS et NOTENBOOM-RAM (112) pour comparer la toxicité de cette préparation commerciale pauvre en PCDF, l'Aroclor 1260, à celle d'un PCB pur, de même degré de chloration - à savoir le 2, 4, 5, 2', 4', 5' - hexachlorobiphényle : si ce dernier se montre bien moins toxique que l'Aroclor au niveau cutané, c'est l'inverse au niveau hépatique. Ces auteurs

déduisent de cette étude et des précédentes le tableau suivant, montrant par des croix l'intensité du pouvoir pathogène des PCDF et des PCB purs à différents niveaux :

	LESIONS CUTANÉES (hyperplasie et hyperkératose)	OEDEMES	NECROSE ET DEGENERESCENCE HEPATIQUES	PORPHYRIE HEPATIQUE
PCDF	++	++	++	-
PCB purs	+	-	+	++

Le rôle des PCDF purs dans l'origine des lésions cutanées, oedémateuses et hépatiques, est retrouvé par NISHIZUMI (73) en 1978, qui compare la toxicité des PCDF à celle, bien connue, de composés aromatiques à hétérocycle oxygéné (dioxine).

MORITA et OISHI (69), enfin, après avoir étudié la distribution tissulaire et la demi-vie biologique des PCDF chez des souris, montrent que ces composés, à la dose de 10 ppm, provoquent chez le rat des lésions plus graves qu'un PCB pur, donné à raison de 100 ppm (75, 76). Tout ceci nous permet de conclure, avec VOS, non à un effet toxique des PCDF seuls, mais bien à une association des toxicités des PCB purs et des PCDF dans les mélanges commerciaux, avec, sans doute, un rôle prédominant des PCDF dans certains d'entre eux.

Pour clore cette revue de la toxicité des PCB, il faut signaler que de nombreux auteurs, travaillant sur des oiseaux ou des mammifères, ont constaté que les PCB pouvaient entraîner une diminution de la résistance des animaux vis-à-vis de diverses infections. Ces phénomènes peuvent s'expliquer par diverses actions des PCB déjà envisagées : diminution de la résistance aux stress, action sur les hormones, sur le foie, mais aussi par des actions non encore citées, au niveau des organes immunocompétents.

Dans la troisième partie de ce travail - expérimentale - nous nous intéresserons particulièrement à ce dernier problème ; mais nous devons, au préalable, rappeler dans une seconde partie l'organisation générale de la réponse immunitaire et des organes qui la servent, et montrer que divers polluants peuvent agir à ce niveau.

2 - LE SYSTEME IMMUNITAIRE : ORGANISATION GENERALE ET SENSIBILITE AUX POLLUANTS

2.1 - DONNEES GENERALES SUR LE SYSTEME IMMUNITAIRE :

Le système immunitaire est un ensemble d'organes, de cellules circulantes et de protéines particulières ; il est chargé de mettre en oeuvre toutes les réactions qui résultent de la rencontre des cellules propres d'un animal avec un antigène, le plus souvent étranger à l'organisme. Ces réactions représentent ce que l'on appelle la réponse immunitaire.

2.1.1. Organisation générale :

Cette réponse comporte une part spécifique et une autre qui ne l'est pas.

La caractéristique fondamentale de l'immunité spécifique est l'établissement d'une mémoire immunologique : lors du premier contact avec l'antigène, une information spécifique est conservée ; lors d'un contact ultérieur avec le même antigène, une réponse immunitaire secondaire "adaptée" interviendra.

La résistance non spécifique fait intervenir un certain nombre de mécanismes qui ne comportent pas de mémoire immunologique ; elle intervient donc même sur les antigènes qui pénètrent pour la première fois dans l'organisme. Elle est constituée : de certains inhibiteurs des microbes (lysozymes par exemple) ; de l'interféron (qui sert à la protection contre certain virus) ; du phénomène de phagocytose (absorption et destruction de particules microbiennes par des cellules du système réticulo-histiocytaire, tels les leucocytes polynucléaires, les macrophages, les cellules de Kupffer du foie) et du complément: cet ensemble de protéines peut être activé dans certaines circonstances, provoquant un phénomène de lyse si l'antigène est porté par une cellule.

2.1.2. Immunité cellulaire et immunité humorale :

Lors d'un contact avec un antigène, on trouve dans le sérum des protéines complexes, appelées anticorps.

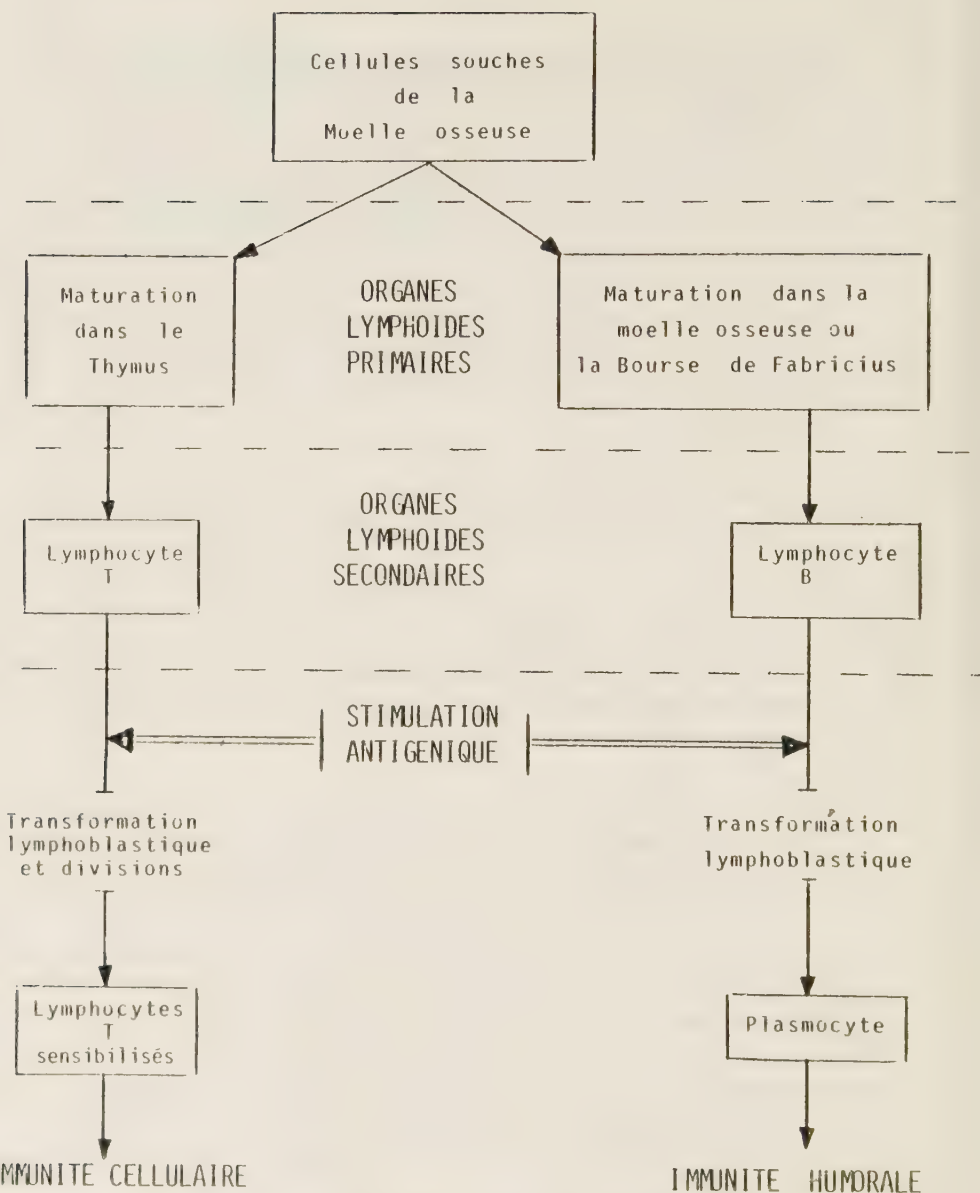


FIGURE 7 : LES LYMPHOCYTES ET LA DUALITÉ DE LA RÉPONSE IMMUNITAIRE SPÉCIFIQUE . (D'APRÈS VOS)

Est un antigène toute substance étrangère qui, introduite dans un organisme vivant, est capable de susciter la formation d'un anticorps et de s'unir à lui. L'antigène a un double pouvoir : inducteur et récepteur. Mais, en fait, la réaction antigène - anticorps n'a pas toujours lieu : elle est le propre de ce que l'on appelle l'immunité humorale, l'antigène stimulant certains lymphocytes, dits lymphocytes B. Mais l'antigène peut aussi informer d'autres lymphocytes, les lymphocytes T, et induire ainsi une immunité dite cellulaire, qui ne fait pas appel aux anticorps.

Ces phénomènes sont résumés dans la figure 7.

Les lymphocytes proviennent de cellules - souches qui, pendant l'embryogénèse se trouvent dans le foie, puis gagnent la moelle osseuse. Ces cellules, devenues lymphoblastes, quittent la moelle pour gagner des organes particuliers, dits organes lymphoïdes primaires, dans lesquels elles subiront une sorte de maturation et de différenciation. Les lymphocytes qui passent par le thymus seront les lymphocytes T ; ceux qui migrent dans la bourse de Fabricius (organe lymphoïde propre aux oiseaux) ou restent dans la moelle osseuse (chez les mammifères) seront les lymphocytes B.

Une fois différenciés, les lymphocytes T et B ne restent pas dans les organes lymphoïdes primaires ; ils se regroupent dans des organes lymphoïdes secondaires, comme la rate, les nœuds lymphatiques, les plaques de Peyer de l'intestin, les amygdales.

Il est important de signaler que ces organes lymphoïdes secondaires sont caractérisés par une double association : ils sont en effet constitués de cellules responsables à la fois de la réponse cellulaire et de la réponse humorale, mais à celles-ci, et à l'immunité spécifique qu'elles représentent, ils associent de très nombreux macrophages, responsables d'une partie de la résistance non spécifique.

L'immunité cellulaire recouvre principalement trois phénomènes

- l'immunité cellulaire protectrice classique (phagocytose),
- l'hypersensibilité retardée,
- et les mécanismes de rejet des greffes.

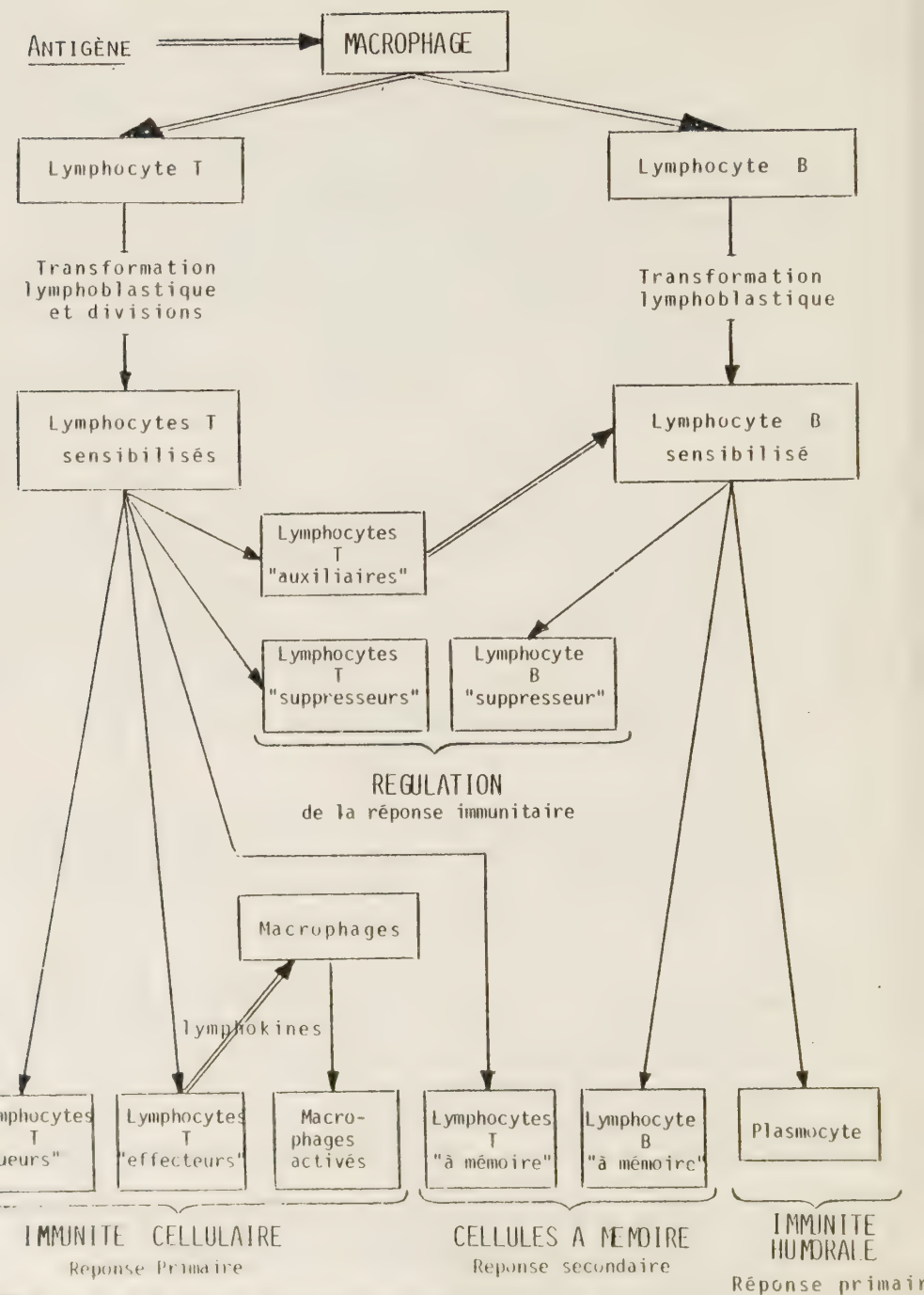


FIGURE 8 : LA RÉPONSE IMMUNITAIRE, SPÉCIFIQUE ET LES CELLULES IMMUNO-COMPÉTENTES. (D'APRÈS VOS)

L'immunité humorale, quant à elle, comprend d'une part l'immunité humorale protectrice classique (dûe aux anticorps), et d'autre part, les réactions d'hypersensibilité immédiate (anaphylaxie, cytotoxicité, phénomène d'Arthus).

2.1.3. Le déroulement de la réponse immunitaire :

Lorsqu'un antigène pénètre dans un organisme vivant, il est tout d'abord confronté aux macrophages et aux cellules - fixées ou circulantes - constituant le système réticulo-histiocytaire (SRH) ; la majeure partie de l'antigène est rapidement phagocytée et détruite par ces cellules, mais il est probable qu'une petite quantité reste adsorbée à leur surface, ce qui rend les macrophages capables d'informer et de stimuler les lymphocytes, qu'ils soient B ou T. La suite des événements dépend donc de ceux-ci. (voir figure 8).

Le lymphocyte T stimulé va subir le phénomène de transformation lymphoblastique : de petit et quiescent qu'il était, il devient énorme, et ses organites prolifèrent (appareil de Golgi, vacuoles, lysosomes) ; cette grosse cellule très active se divise alors, donnant un pool de lymphocytes T sensibilisés, responsables de l'immunité cellulaire, et qui sont répartis en différentes catégories :

- Il existe tout d'abord des lymphocytes "effecteurs" produisant des substances nommées lymphokines, qui, d'une part peuvent stimuler la transformation lymphoblastique des lymphocytes B, et d'autre part, vont agir sur les macrophages (citons le MIF : migration inhibiting factor ; le CF : chemotactic factor ; le MAF : macrophage activating factor).
- D'autres lymphocytes T sensibilisés sont dits "tueurs" (ou "killer"), car ils sont cytotoxiques et jouent un rôle-clé dans le rejet des cellules tumorales et des greffes.
- D'autres encore sont dits "auxiliaires" (ou "helper") car ils aident les lymphocytes B lors de la production d'anticorps.
- Les lymphocytes T "suppresseurs" qui agissent peut-être par l'intermédiaire des macrophages, semblent inhiber l'action des lymphocytes B ou des lymphocytes T "effecteurs".

- Enfin, il existe des lymphocytes T "à mémoire", qui vont conserver une "empreinte" du contact antigénique et seront responsables de la réponse immunitaire secondaire.

En ce qui concerne les lymphocytes B, leur stimulation par les macrophages va aussi donner lieu à une transformation lymphoblastique activée, comme nous l'avons vu, par les lymphokines des cellules T "effecteurs". Mais il n'y a pas division de la cellule activée, comme dans le cas précédent : cette cellule est un plasmocyte - forme active et sécrétante du lymphocyte B : elle assure la production des anticorps. Les principales immunoglobulines produites sont les IgG, les IgM, les IgA.

- Les IgG sont les anticorps les plus abondants et sont surtout sécrétés lors de la réponse secondaire, quand l'organisme a déjà été en contact avec l'antigène et en conserve la mémoire ; ils diffusent rapidement dans le milieu extravasculaire où ils combattent les microorganismes et leurs toxines.

- Les IgA, sont les principaux anticorps des sécrétions séromuqueuses et ont donc un rôle majeur dans la défense des surfaces de contact entre le corps et le milieu extérieur.

- Enfin, les IgM, sont des anticorps de fort poids moléculaire, qui sont des agents agglutinants très puissants, produits dès le début de l'infection. Ils constituent donc une défense de première ligne très efficace.

Les lymphocytes B sensibilisés peuvent aussi donner des cellules à mémoire intervenant dans la réponse immunitaire secondaire, conjointement aux cellules à mémoire d'origine T.

Cette étude générale de la réponse immunitaire permet de constater que, dans la grande majorité des cas, il y a coopération entre les immunités cellulaire et humorale d'une part, et entre cette immunité spécifique et les macrophages d'autre part. Cette coopération est assurée par les cellules T "auxiliaires", par les lymphokines et par le fait que les macrophages sont à l'origine de la transformation lymphoblastique des cellules B et T.

Les cellules "suppresseurs", qu'elles soient issues de la transformation lymphoblastique des lymphocytes B ou T, ont sans doute un rôle important dans la régulation de tous ces mécanismes et donc de la réponse immunitaire.

Ces quelques rappels immunologiques nous permettent d'aborder le problème qui nous intéresse, à savoir la possibilité d'une action immunodépressive de certains polluants.

2.2 - SENSIBILITE DU SYSTEME IMMUNITAIRE AUX POLLUANTS.

Nous avons précédemment envisagé les multiples aspects de la toxicité des PCB sur les organismes vivants, mais il en est un que nous n'avons pas évoqué, et sur lequel nous allons revenir beaucoup plus en détail dans la suite : il s'agit de l'action des PCB sur le système et la réponse immunitaire, pouvant entraîner une modification de la résistance des animaux et de l'homme vis-à-vis d'agents infectieux ou cancérigènes.

Mais ce problème, évoqué par différents auteurs depuis longtemps, est à replacer dans le cadre beaucoup plus général de la relation pouvant exister entre un polluant et la résistance d'un organisme.

+ Métaux lourds. Les métaux lourds, de plus en plus répandus dans la nature par l'industrie, sont suspectés de diminuer la résistance des animaux à l'infection. Une étude, effectuée par HEMPHILL et al (41) sur des souris, a montré une considérable augmentation de la mortalité, par rapport aux témoins, chez des animaux ayant reçu une dose de nitrate de plomb, puis contaminés par une souche de *Salmonella typhimurium* peu pathogène pour la souris. La faible dose de plomb utilisée, n'ayant entraîné aucune manifestation clinique, a pourtant multiplié la DL50 des *Salmonelles* par 10. De même, OHI et al.(74) ont constaté une diminution et un délai dans l'apparition du pic de réponse humorale primaire chez des souris contaminées par d'assez fortes doses de méthyl-mercure.

Des sels de plomb, de mercure, mais aussi de cadmium, ont été utilisés par KOLLER (55) chez des lapins ; les animaux ne présentant aucun symptôme d'intoxication, ont ensuite reçu une dose de virus d'Aujeszky ; l'auteur a noté une forte diminution du taux d'anticorps produits par les lapins intoxiqués par rapport aux témoins.

+ Aflatoxine (toxine d'*Aspergillus flavus*) GIAMBRONE et al. (33), travaillant sur des poulets, ont montré que la présence d'aflatoxine dans les aliments diminuait à la fois les réponses immunitaires cellulaires et humorales. Entre autres, l'hypersensibilité retardée induite par une tuberculation est nettement réduite, ainsi que le taux d'immunoglobulines sériques.

+ Pesticides : Les organophosphorés peuvent avoir des effets proches, comme le montre ROTOLO (87) en exposant expérimentalement des rats au parathion puis en étudiant la capacité des lymphocytes B et T à former des rosettes. Une diminution significative de cette aptitude est constatée chez les rats contaminés. Avec d'autres organophosphorés, tels le carbaryl, et le méthylparathion, STREET et SHARMA (103) ont testé la réponse immune de lapins, et fait l'analyse histologique de leurs principaux organes lymphoïdes. Ils constatent une diminution des follicules lymphoïdes dans la rate, et une atrophie du cortex thymique. Une stimulation antigénique est effectuée au moyen de globules rouges de mouton, et d'adjuvant complet de Freund, administrés sous la peau. Le taux des gamma-globulines sériques est bien plus faibles que chez les témoins, et on constate aussi une réaction cutanée à la tuberculine nettement moins importante. Il n'y a pourtant aucun signe de toxicité.

Mais les organochlorés ont été les plus étudiés à cet égard. Par exemple, dans les travaux de STREET et SHARMA que nous venons de citer, ces auteurs avaient retrouvé des résultats voisins avec le DDT. WASSERMANN et al. (119), en administrant 200 ppm de DDT à des rats, ont montré que les animaux contaminés formaient 30 % d'anticorps anti-ovalbumine en moins par rapport aux témoins, quand cet antigène leur était injecté. De plus, il n'y avait pas, chez ces animaux, d'hypertrophie

surrénalienne après un traumatisme chirurgical, alors qu'elle est toujours présente chez les animaux sains. Les auteurs en ont déduit que le DDT déprime les défenses de l'organisme.

De façon plus pratique, RADHAKRISHNAN et al. (84) montrent que l'administration de faibles doses de DDT à des poulets augmente de façon significative leur sensibilité à l'histomonose, sans qu'ils présentent de signes d'intoxication.

Toujours en ce qui concerne le DDT, GLICK (34) en ayant administré 500 ppm à des poulets, constate qu'ils forment beaucoup moins d'IgM et d'IgG que les témoins après stimulation des défenses immunes grâce à la sérumalbumine de bovin : les poulets soumis à des doses importantes de DDT et devant faire face à des modifications de leur environnement, sont moins aptes que les autres à atteindre une réponse normale en anticorps. Un résultat comparable a été obtenu par LATIMER (57).

Assez rapidement, des résultats semblables ont été obtenus avec les PCB et les composés voisins : PBB, PCT... FLICK et al démontrent que les PCB provoquent une atrophie du tissu lymphoïde chez le poulet (cité par le rapport de l'OMS - 77) ; le même résultat est obtenu par VOS et KOEMAN (107) , toujours chez le poulet, puis par VOS et BEEMS (110) chez le lapin. Dans les deux cas, il existe une atrophie de la rate et du thymus. FRIEND et TRAINER (30) provoquent une mortalité bien plus forte et plus rapide chez des canetons inoculés avec le virus de l'hépatite du canard, et traités au préalable par un PCB. Ils insistent alors sur l'absence d'effet des PCB chez les canetons, absence qui n'est qu'apparente puisque le virus a révélé un effet sub-clinique.

VOS et de ROIJ(114) puis VOS et VAN DRIEL-GROOTENHUIS (113) sont parvenus à la conclusion que ces effets pouvaient être imputables à un pouvoir immunosuppresseur des PCB. Ils ont trouvé que, lorsque des cobayes dont le régime alimentaire était additionné de Clophen A 60 ou d'Aroclor 1260 à la dose de 50 ppm, étaient stimulés par l'anatoxine

tétanique, ils obtenaient un titre d'antitoxine et une numération de cellules productives d'antitoxines plus faibles que chez les témoins. Ce dernier phénomène entraînait une baisse sensible des immunoglobulines chez les animaux traités. De plus, la réaction cutanée à la tuberculine chez des animaux immunisés par l'adjuvant complet de Freund était également déprimée par un régime à 50 ppm. Ces auteurs pensent que l'aptitude des PCB à accroître la sensibilité des canetons au virus de l'hépatite du canard (FRIEND et TRAINER, déjà cités) et celle des poissons à la maladie fongique (HANSEN et al, cité par les auteurs) pouvaient être attribuées à cet effet immunosuppresseur.

LOOSE et al (63), s'ils ne constatent pas d'effet des PCB sur les organes lymphoïdes, trouvent pourtant que la sensibilité de la souris à l'endotoxine de *Salmonella typhosa* et à la malaria est nettement augmentée par l'apport alimentaire d'Aroclor 1242 pendant quelques semaines.

En ce qui concerne les Primates, des effets semblables, mais plus accusés, ont été retrouvés : THOMAS et HINSDILL (105), par exemple, apportant 5 ppm d'Aroclor 1248 dans l'alimentation de Rhésus, pendant 6 mois, mettent en évidence une chute de la réponse en anticorps vis-à-vis des globules rouges de mouton, mais pas vis-à-vis de la toxine tétanique. Mais surtout, ALLEN et BARSOTTI (5) constatent une profonde hypoplasie de la rate, du thymus et de la moelle osseuse chez des nouveaux-nés de Macaques Rhesus, dont les parents ont reçu des doses de PCB aussi faibles que 2,5 ppm.

Chez les oiseaux, on peut citer l'étude de HARRIS et al (39) : différents Aroclors sont donnés dans l'alimentation de poules pondeuses pendant 8 semaines. Outre une chute du taux d'éclosion, il s'ensuit une atrophie de la rate et de la bourse de Fabricius chez les poussins de 1 jour, ce phénomène persistant plusieurs semaines après que l'on ait interrompu la contamination des poules. Malgré cela, les poussins ont une réponse en anticorps normale après un contact primaire et secondaire avec *Brucella abortus*.

Quant à l'étude de KECK et al, (51) effectuée chez la souris, elle a prouvé qu'il existe bien une légère augmentation de la sensibilité à une infection expérimentale par *Klebsiella*, sous l'influence du DP 5 ; dans le même travail, les auteurs montrent par contre, que la résistance des mêmes animaux vis-à-vis d'une tumeur liquide : l'ascite d'Ehrlich, n'est pas diminuée : elle est même augmentée aux doses de 10 et 50 ppm.

Dans cette revue de divers travaux prouvant le pouvoir immunodépresseur des PCB, on constate que les études se sont affinées, utilisant des techniques de plus en plus complexes, telles que l'utilisation de composés marqués, de tests immunologiques élaborés, du comptage de cellules productrices d'anticorps dans les noeuds lymphatiques, etc...

Dans la troisième partie de ce travail, expérimentale, nous aurions pu utiliser des tests semblables pour constater l'influence des PCB sur la réponse immunitaire : *in vivo*, fabrication des anticorps après un contact antigénique ; *in vitro*, test de transformation lymphoblastique (T.T.L.) ; l'interprétation de ces tests restait assez simple.

En réalité, nous allons essayer de mettre en évidence une modification de la résistance globale de souris contaminées par un PCB, vis-à-vis d'une infection grippale expérimentale, plutôt qu'une action immunodépresseive précise.

Cet abord de l'action des PCB est beaucoup plus global, donc plus difficile à analyser, mais il présente l'intérêt d'être plus proche des conditions naturelles, ce qui est un avantage dans le cadre de l'étude d'un polluant.

3. ETUDE DES EFFETS DE LA CONTAMINATION PAR LES PCB SUR LES ORGANES IMMUNO-COMPETENTS DE LA SOURIS ET SUR SA SENSIBILITE A UNE INFECTION GRIPPALE EXPERIMENTALE.

Avant de commencer ce chapitre plus personnel, il est nécessaire de replacer cette étude dans son cadre : des travaux préliminaires réalisés au Laboratoire de Pharmacie et Toxicologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON, par KECK et al (51) et concernant les effets immunologiques des PCB chez la souris, avaient montré d'une part que les PCB induisaient une hépatomégalie mais n'avaient pas d'effet sur la rate, d'autre part, qu'ils augmentaient légèrement la sensibilité des souris à une infection par des Klebsiella, et enfin, qu'ils ne diminuaient pas leur résistance à une tumeur liquide. Il a alors été décidé de poursuivre et de diversifier les travaux sur ce sujet, afin de confirmer ou d'infirmer ces conclusions provisoires et partielles, mais en travaillant toujours aux mêmes concentrations. En effet, le but de ces études est de vérifier la présence ou l'absence d'effets immunodépresseurs propres aux PCB, c'est à dire à des doses inférieures à celles provoquant des effets toxiques généraux tels qu'une baisse d'état général qui entraîne fréquemment une dépression immunitaire non spécifique. Cela peut en outre permettre de vérifier si des doses faibles, comparables à celles que l'on rencontre dans les conditions naturelles, sont susceptibles d'influer sur les processus immunitaires de l'homme ou des animaux, et de favoriser ainsi le déclenchement de certaines maladies.

Ces nouvelles recherches ont été séparées en trois volets : effet de la contamination par les PCB sur la résistance des souris à une infection par une souche de Brucella (C. PEPIN, thèse de doctorat Vétérinaire, LYON - à paraître) ; effet sur le développement de l'ascite tumorale d'Ehrlich (M. PEPIN, thèse de doctorat Vétérinaire, LYON.- à paraître) et enfin, notre propre travail : effet sur la résistance globale à une infection virale (grippe expérimentale) et sur les organes immunocompétents.

3.1 - PROTOCOLE EXPERIMENTAL :

3.1.1. Choix de l'espèce animale :

En plus des qualités d'élevage bien connues de la souris, il était intéressant de travailler sur cette espèce, qui a été jusqu'à maintenant fort peu utilisée par les auteurs s'occupant de la toxicité des PCB. La littérature, comme la première partie nous l'a montré, fait appel à des espèces aussi diverses que les poissons, les ruminants et le porc, les chiens, les oiseaux et les primates. Parmi les petits mammifères, la plupart des études ont été conduites sur le rat, le lapin, ou le cobaye, mais presque jamais sur la souris, pourtant classiquement utilisée en immunologie et en microbiologie. Cette espèce présente en outre l'avantage d'être un modèle expérimental de type mammifère, contrairement aux poules, dindons, et cailles japonaises si souvent utilisés.

3.1.2. Choix de l'infection expérimentale :

Compte tenu des effets immunodépresseurs déjà connus des PCB, il était intéressant de soumettre des souris en ayant reçu dans leur alimentation à un contact avec une infection virale, afin de voir si leur sensibilité au virus se trouvait modifiée. Ici encore, la littérature nous a montré combien le modèle viral avait été rarement utilisé pour tester les effets immunologiques des PCB : le seul exemple rencontré est celui du virus de l'hépatite, utilisé par FRIEND et TRAINER (30) chez le caneton, donc chez une espèce dont la sensibilité aux PCB est bien différente de celle de la souris. Les résultats permettront de justifier et de compléter ceux obtenus en plus grand nombre avec des infections bactériennes ou des toxines microbiennes.

Le choix de l'espèce animale étant fait, nous avons recherché un modèle d'infection virale applicable à l'espèce de laboratoire dont nous avons une connaissance et une pratique de la contamination. Le virus utilisé est une souche de Myxovirus Influenza de type A; plus précisément, il s'agit de la souche A/Equi/1/Prague 56, de l'O.M.S., agent d'une grippe équine.

Outre l'intérêt de tels virus du fait de l'importance de la grippe humaine et des rapports existant entre les virus grippaux humains et animaux, ils ont l'avantage d'être bien connus, ayant donné lieu à de

nombreux travaux, tant au niveau de leur structure qu'à celui de la cinétique de l'infection et de la réponse immune.

Le modèle souris - infection grippale est très intéressant, comme le souligne SCHULMAN (95) : depuis que la possibilité de l'infection grippale expérimentale de la souris a été prouvée en 1934, par ANDREWES, on a constaté que, même des souches non adaptées de virus grippaux humains ou porcins pouvaient se multiplier de façon importante dans les tissus respiratoires des souris, et que des souches adaptées par passage en série sur souris entraînent des lésions pulmonaires typiques, et la mort.

Néanmoins, on n'a jamais mis en évidence d'infection grippale spontanée chez la souris, et l'on n'a pas pu reproduire nettement la transmission de souris à souris.

Des résultats précis ont récemment été obtenus par LEMERCIER (59) et LEMERCIER et al (58) concernant l'histologie de la broncho-pneumonie grippale expérimentale de la souris, la réponse immunitaire locale et l'étude ultrastructurale de la pénétration du virus dans les cellules des épithéliums bronchiques et alvéolaires. Ces travaux viennent préciser les anciens résultats obtenus dès 1950 par FAZEKAS de ST. GROTH et DONNELLEY (28) concernant la concentration au niveau pulmonaire d'anticorps sériques lors d'une infection grippale.

Les avantages de la souche utilisée sont les suivants :

- elle est facile à manipuler et à entretenir,
- elle est facile à caractériser : on peut éventuellement retrouver le virus dans les organes par ovoculture ou hémagglutination ;
- on peut aisément mettre les anticorps en évidence par inhibition de l'hémagglutination ;
- elle a un pouvoir pathogène bien défini : elle est létale pour la souris de 18-20 g en 4 à 7 jours, et on peut définir sa DI50 (dose létale 50 %).
- elle entraîne des modifications de la muqueuse respiratoire que l'on retrouve à l'histologie. Rappelons en outre que SHIGEMATSU (97) a

signalé l'existence d'une bronchite chronique chez les malades atteints du "Yusho" : on peut penser que les PCB facilitent l'installation d'une infection au niveau pulmonaire.

- Le degré d'infection peut être quantifié assez facilement : quand les souris meurent, on peut l'évaluer par le pourcentage de mortalité et par le temps s'écoulant entre l'inoculation et la mort. Chez les survivantes, on peut évaluer de façon quantitative l'extension des lésions pulmonaires (25 %, 50 %, ou 100 % d'atteinte pulmonaire), la perte de poids (deshydratation par état fébrile), et la quantité de virus contenu dans les poumons.

A priori, ces différents critères pourraient être utilisés pour évaluer avec précision une différence de réaction pathologique entre les différents lots.

3.2. MATERIEL :

3.2.1.- Les souris :

Les animaux utilisés sont des souris SWISS femelles, de 18 à 20 g au début de l'expérimentation, provenant du Centre d'Elevage d'Animaux de Laboratoire des Oncins (IFFA-CREDO). Après avoir été regroupées au nombre d'environ 25 souris par cage et par lot, et après une période d'acclimatation de 8 jours, elles reçoivent les aliments supplémentés en PCB.

3.2.2.- Le PCB et son administration :

Le PCB utilisé dans cette expérimentation est le DP₅, équivalent français de l'Aroclor 1254, très souvent utilisé par les auteurs, comme nous l'avons vu dans la première partie. Il s'agit d'un mélange technique de polychlorobiphényles, dans lequel dominent les composés pentachlorés et correspondant à 54 % de chloration. (Echantillon aimablement fourni par PRODELEC-FRANCE).

Trois concentrations de ce produit sont réalisées dans l'aliment :

- Une concentration "forte" : 250 ppm.
- Une concentration "moyenne" : 50 ppm
- Une concentration "faible" : 10 ppm.

Ces concentrations n'ont pas été choisies arbitrairement, mais parcequ'elles permettent d'assurer une contamination lente, chronique des souris, afin d'étudier précisément les effets à long terme du DP₅, et non une toxicité aigüe.

Les aliments supplémentés, de type "bouchons" (aliment d'entretien rat et souris), ont été spécialement préparés par les établissements U.A.R., en homogénéisant un aliment-farine avec les solutions éthanoliques correspondantes de DP₅, puis en effectuant, après évaporation du solvant, une regranulation. L'aliment-témoin est préparé de même, mais avec un volume identique d'éthanol pur.

Des dosages de DP₅, effectués après extraction hexamique et analyse en chromatographie en phase gazeuse, ont permis de retrouver, à ± 2 ppm près, les teneurs annoncées. De plus, des dosages de contrôle, effectués après environ 6 mois de stockage et d'utilisation des aliments, ont montré qu'il n'y avait pas de variation notable des teneurs en DP₅ au cours du temps.

Quatre lots de souris ont donc été constitués, avec environ 25 animaux par lot :

- lot témoin,
- lot à 10 ppm,
- lot à 50 ppm,
- lot à 250 ppm.

Les animaux reçoivent ad libitum l'aliment traité et de l'eau normale.

3.2.3 - L'infection virale:

Le virus utilisé a été fourni par Madame FONTAINE, du Laboratoire de Pathologie Médicale de l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON, où a été effectué l'ensemble des manipulations virologiques. La souche a été adaptée à la souris : la suspension virulente a été préparée à partir d'un stock de virus dont on a réalisé le 23^e passage sur souris de 18-20g. Pour ce faire, on a pratiqué l'inoculation intra-nasale à des souris que l'on a ensuite sacrifiées avant l'apparition des symptômes, 12 heures après l'inoculation. On obtient la suspension-mère de virus,

en broyant leurs poumons dans un tampon phosphate (PBS), à raison de deux poumons dans 1 ml de PBS. Le titrage du virus a alors permis de déterminer la DL₅₀ (dose létale 50 %) sur souris de 18 - 20 g., qui est de 4,2 ; sur oeuf, la EID₅₀ (Egg Infectious Dosis 50 %) est de 4,66.

Dans le cas de la maladie transmise à la souris, l'infection grippale se transforme en une maladie létale, avec de graves lésions pulmonaires, accompagnées de symptômes généraux : poil terne et hirsute, yeux collés et gonflés, narines croûteuses, diminution de l'activité, polypnée puis dyspnée. Les animaux ne s'alimentent plus, se deshydratent et donc perdent du poids deviennent de plus en plus prostrés et meurent 4 à 7 jours après le début des symptômes.

Comme dans les expérimentations déjà réalisées sur la souris, au Laboratoire de Pathologie Médicale de l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON, 3 dilutions de virus ont été préparées à partir de la suspension mère. Les quatre lots de 24 ou 25 souris ont donc été subdivisés en trois sous-lots de 8 ou 9 souris, chacun recevant une des trois dilutions.

La plus forte concentration virale entraîne habituellement l'apparition des symptômes que nous venons de décrire dès 48 h. La mortalité est totale en 3 à 4 jours. Avec les inoculums plus dilués, les manifestations de la maladie sont les mêmes, mais l'incubation est plus longue : la mortalité se situe entre le 3^e et le 7^e jour, tout en restant de 100 %. Enfin, avec les doses infectantes plus faibles, voisines de la DL₅₀, certaines souris meurent entre le 7^e et le 11^e jour, les autres guérissent.

Dans le cas présent, les trois dilutions choisies ont été 1/50, 1/500 et 1/5000, correspondant en particulier à des incubations différentes. L'une des trois doit être proche de la DL₅₀, ce qui doit permettre de mettre en évidence des modifications discrètes de la réceptivité. En effet, l'infection expérimentale des souris étant faite par voie intranasale, comme c'est le cas dans les gripes humaines et animales épidémiques, c'est surtout la réceptivité au virus de la muqueuse respiratoire qui est mesurée.

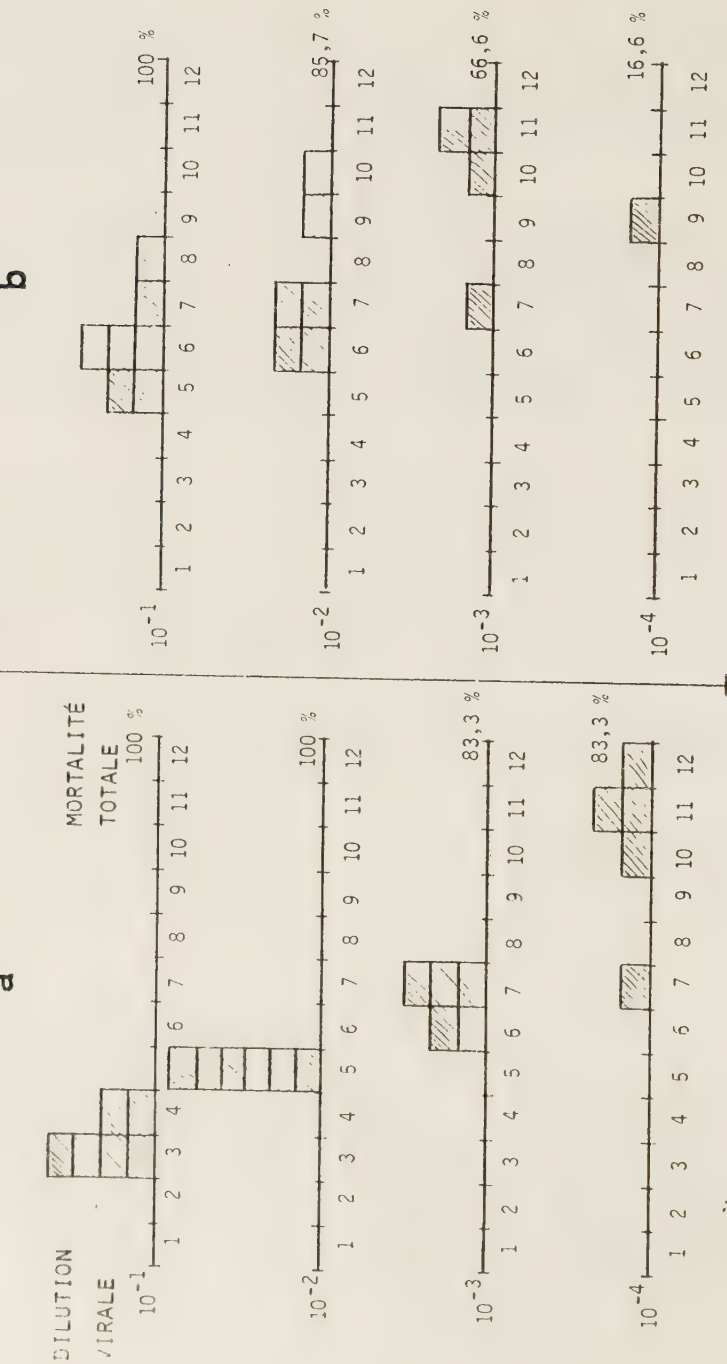


FIGURE 9 : Comparaison des mortalités des souris soumises à quatre dilutions du virus A/Equi/1/Prague 56 pendant les 12 jours suivant l'inoculation

a = souris de 18 - 20 g

b = souris de 26 g (en moyenne)

on a indiqué, pour chaque dilution utilisée, la mortalité totale en fin d'expérience (en %)
Chaque rectangle hachuré représente la mort d'une souris

D'après l'intensité de la contamination par le DP5; on peut prévoir une modification, soit de l'infection pulmonaire, soit des symptômes généraux. Ces variations peuvent se retrouver pour une seule dilution virale, ou bien peuvent être semblables pour toutes les dilutions. Enfin, la seule modification observable peut concerner le délai d'apparition des différents symptômes.

Les expériences utilisant ce virus étant habituellement effectuées sur des souris de 18-20 g, un travail préliminaire a été conduit sur des souris plus âgées, pesant en moyenne 26 g, afin de voir si leur réponse au virus était différente. En effet, les souris que nous avons utilisées pesaient entre 18 et 20 g au début de la contamination par le DP₅, mais nettement plus lors de l'inoculation du virus. La figure 9, qui traduit les mortalités dans les deux cas, montre que l'incubation semble être un peu plus longue dans le second cas ; de plus, pour la dilution virale de 10^{-4} , la mortalité des souris plus âgées est nettement plus faible. Néanmoins, les résultats restent très semblables, que les souris pèsent 18-20 g ou 26 g.

3.3 - METHODE :

3.3.1. Période de contamination :

Les quatre lots de 24- 25 souris chacun sont placés dans des cages et isolés les uns des autres. La durée de distribution des aliments contaminés a été pour tous les lots de 3 mois environ. Pendant toute cette période, la consommation d'aliment dans les différents lots est déterminée chaque semaine ; de même, le gain de poids des souris est enregistré par pesée hebdomadaire pendant la phase de croissance rapide, puis bimensuelle lors de la phase stationnaire.

3.3.2. Période d'expérimentation :

+ Inoculation : elle a été réalisée au terme des trois mois de contamination, et par voie intranasale, qui est la voie naturelle de l'infection grippale. On place sur chaque narine de la souris solidement tenue en main une goutte de la dilution choisie. Pour éviter que l'animal ne déglutisse la goutte et pour faire en sorte qu'il l'inspire

réellement, une légère anesthésie à l'éther est réalisée au préalable. On prend garde à ne pas trop pousser cette anesthésie qui pourrait s'avérer dangereuse sur des souris dont le foie est déjà lésé par le DP_5 . Les animaux inoculés sont alors répartis en 12 lots de 8 ou 9 selon la solution de l'inoculum ; elles reçoivent de l'eau et de l'aliment en "bouchons" non contaminé pendant la phase d'observation.

* Phase d'observation : Elle a été fixée à 13 jours. Pendant cette période, on note chaque jour la mortalité dans les différents lots. Les souris mortes sont prélevées et pesées. Leur dissection permet de prélever le foie, la rate et le thymus qui sont pesés. On met enfin de côté des prélèvements :

- pour l'histologie : une partie des rates, un fragment de foie, et le thymus, ceci pour chaque lot (formol à 10%) ;
- pour le dosage des résidus : le reste des rates et des foies (stockage à -20°C)

Dans le cas où la plupart des souris survivraient après 13 jours, il a été prévu de les utiliser pour un dosage immunologique de leurs anticorps, afin de voir si la contamination par le DP_5 modifie leur réponse immunitaire humorale. Un prélèvement de sang 15 jours après l'inoculation doit permettre, par la mise en évidence d'anticorps spécifiques, de déceler une multiplication virale dans les organismes infectés, et leur résistance à l'infection. Une seconde stimulation antigénique est prévue pour mesurer les capacités de leur immunité humorale, avec un vaccin contre la grippe du cheval (Gripifra M.D. de l'I.F.F.A.) contenant le virus A/Equi/1/Praque 56.

3.4 - RESULTATS :

3.4.1. Etat général et gain de poids des souris pendant la contamination :

Au cours des 90 jours de contamination, aucun des quatre lots n'a montré de modification de l'état général. Les souris sont restées vives, avec un poil lisse et brillant, quelque soit la dose de DP_5 reçue.

La courbe du gain de poids pendant cette période est représentée, pour les différents lots, par la figure 10. On y constate non seule-

Poids moyens
en g.

Figure 10

courbes de gain de poids pendant la
période d'alimentation contenant le DP5

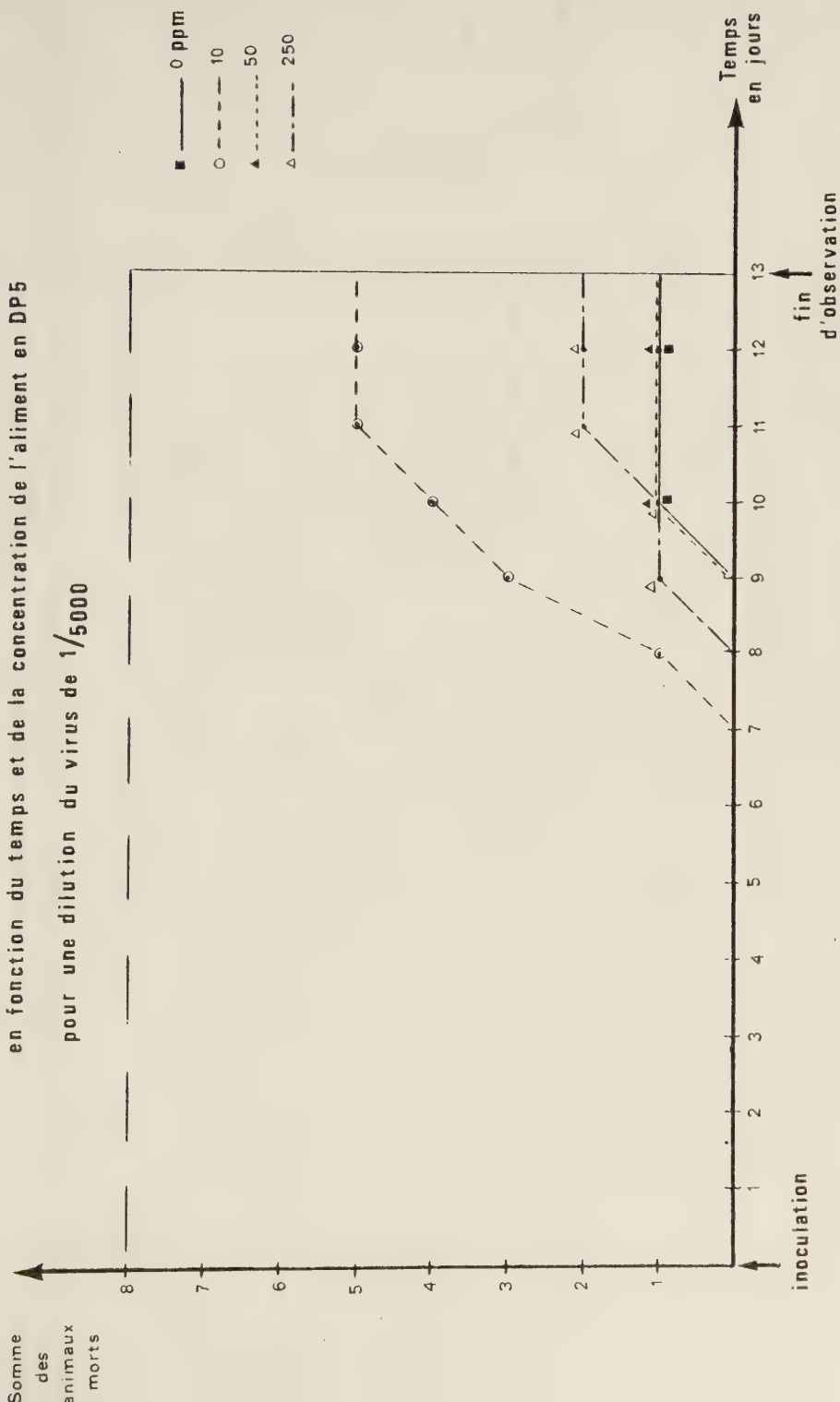


DILUTION DU VIRUS	DP5 DANS ALIMENT	JOURS APRES INOCULATION													Ax morts	MORTALITE $\frac{\%}{2}$
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	Ax du lot	
1/5000	0										1				$\frac{1}{8}$	12, 5
	10								1	2	1	1			$\frac{5}{9}$	55, 5
	50										1				$\frac{1}{7}$	14, 3
	250									1		1			$\frac{2}{9}$	22, 2
1/500	0						1		1	2	2		1		$\frac{7}{8}$	87, 7
	10								1	1	2	1			$\frac{5}{8}$	62, 5
	50						1	3	1		1				$\frac{6}{8}$	75
	250						1	1		1		3			$\frac{6}{8}$	75
1/50	0				1	1	2		2		1	1			$\frac{8}{8}$	100
	10					1	1	2	1	2		1			$\frac{8}{8}$	100
	50						2	2	2	1	1				$\frac{8}{8}$	100
	250					1	2	3		2					$\frac{8}{8}$	100

TABLEAU 2 : EVOLUTION DE LA MORTALITÉ AU COURS DE LA PÉRIODE D'OBSERVATION EN FONCTION DE LA DILUTION DU VIRUS ET DE LA CONCENTRATION EN DP5 DANS L'ALIMENT.

Figure 11 a

Courbe de la cinétique de mortalité des souris
en fonction du temps et de la concentration de l'aliment en DP5
pour une dilution du virus de 1/5000

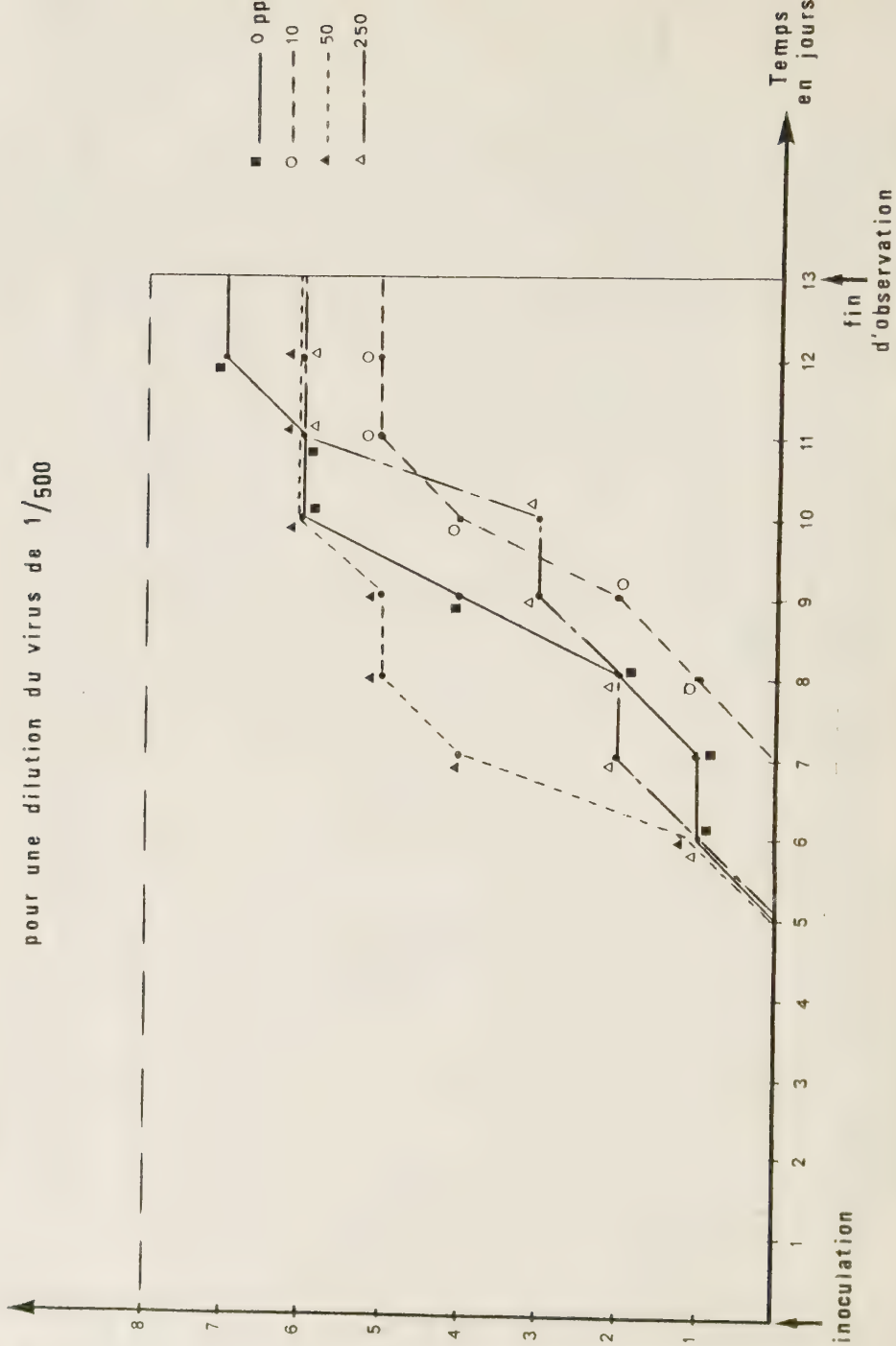


Somme
des
animaux
morts

Figure 11 b

idem a

pour une dilution du virus de 1/500

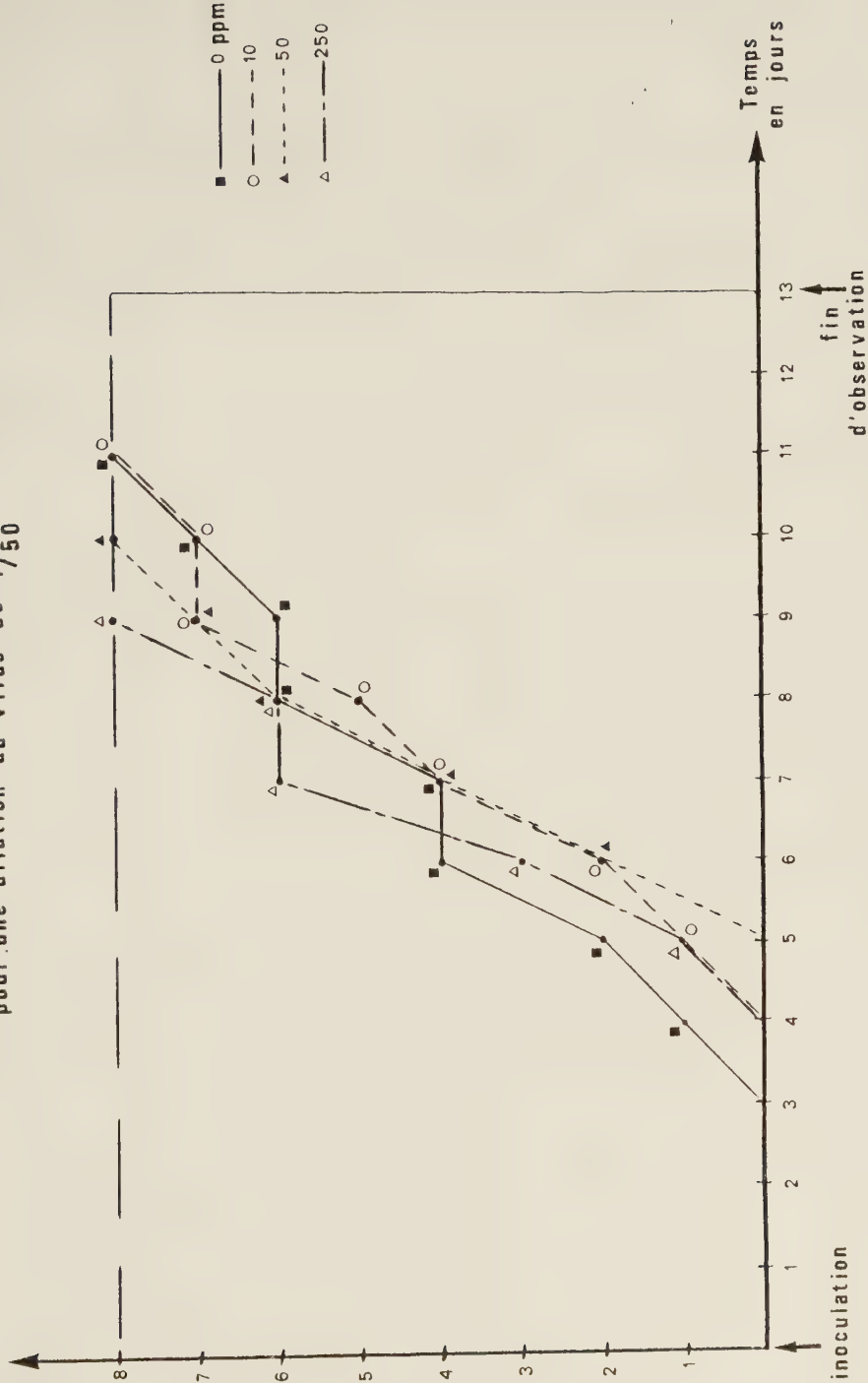


Somme
des
animaux
morts

Figure 11 c

idem a

pour une dilution du virus de 1/50



ment que le gain de poids n'est pas affecté par la contamination, mais qu'il est au contraire augmenté, en particulier à la dose de 250 ppm, de façon significative ($p < 0,01$). L'analyse de la consommation alimentaire permet de mettre ce gain de poids supérieur en relation avec une ingestion d'aliment elle aussi augmentée.

3.4.2. Evolution de la maladie expérimentale :

Les mortalités au sein des 12 lots de souris sont représentées par le tableau 2, en fonction de la dilution virale et de la concentration en DP_5 dans l'aliment, et par les figures 11 (a, b, c) où les lots sont regroupés selon les trois dilutions virales utilisées.

Les symptômes de l'infection grippale ont été très semblables à ce que nous avons prévu : infection rapidement mortelle à 100 % dans le cas des lots ayant reçu la dilution à 1/50 ; infection mortelle à 100 % mais plus lente à se déclarer avec 1/500 ; infection assez bénigne, mortalité tardive et limitée avec 1/5000.

On ne note par contre aucune différence significative dans l'évolution de la maladie entre les lots ayant reçu les différentes concentrations de DP_5 dans l'aliment et les lots témoins.

A ce stade de notre expérimentation, toutes les souris des lots ayant reçu les dilutions du 1/50^e et du 1/500^e étaient mortes ou mourantes, mais presque toutes celles ayant reçu la dilution du 1/5000^e étaient encore vivantes et en bonne santé. Il a donc été décidé, comme prévu, de les utiliser pour un dosage immunologique. Le lendemain du dernier jour de la phase d'observation, les souris survivantes des lots 1/5000^e ont été vaccinées par voie sous-cutanée avec 0,5 ml du vaccin Gripiffa contre la grippe équine, dilué au 1/20^e dans un tampon phosphate (PBS). Ce vaccin contient le virus A/Equi/1/ Prague 56, mais aussi la souche A/Equi/2/Miami 63. On peut en fait considérer que cette vaccination est un contact primaire avec le virus A/Equi/1/Praque 56 pour les souris qui n'en ont pas reçu à l'inoculation intranasale, et qui sont donc indemnes de grippe. Il s'agit d'un contact secondaire

DIFFERENTS LOTS	PONCTIONS SANGUINES APRES VACCINATION (2 essais ; Antigène Prague)	SAIGNEES INDIVIDUELLES APRES SACRIFICE	
		Antigène Prague	Antigène Miami (traité par l'éther)
TEMOIN	$\left. \begin{array}{l} 40 \\ 40 + 80 \end{array} \right\}$	160	+ 40
		40	160
		80	+ 80
		40	+ 40
		320	160
		80	80
10 ppm	$\left. \begin{array}{l} 10 \\ 10 \end{array} \right\}$	80	+ 20
		160	+ 20
		40	40
		160	80
50 ppm	$\left. \begin{array}{l} 40 \\ 40 + 80 \end{array} \right\}$	80	40
		80	80
		+ 40	+ 10
		80	40
		80	40
		+ 80	+ 20
250 ppm	$\left. \begin{array}{l} 80 \\ 80 + 160 \end{array} \right\}$	320	640
		20	+ 40
		160	80
		+ 320	160
		40	+ 40
		+ 80	+ 40
		640	+ 320

TABEAU 3 : RÉSULTATS DES INHIBITIONS DE L'HÉMATAGGLUTINATION RÉALISÉES
SUR LE SÉRUM DES SOURIS SURVIVANTES AYANT REÇU LA
DILUTION VIRALE DU 1/5000^e.

(vaccination de rappel) pour celles qui en ont reçu en faible quantité et qui ont guéri. Par contre, pour toutes les souris, il s'agit d'un contact primaire avec le virus A/Equi/2/Miami 63.

Un rappel identique a été pratiqué sur toutes les souris 15 jours plus tard ; ce même jour, du sang a été prélevé au sinus rétro-orbitaire, grâce à une Pipette Pasteur, afin d'effectuer un premier dosage des anticorps par inhibition de l'hémagglutination.

Enfin, 15 jours plus tard, toutes les souris ont été sacrifiées par décapitation, leur sang a été récupéré pour un second dosage des anticorps, et les prélèvements ont été faits en vue de l'histologie et du dosage des résidus. Les résultats des deux inhibitions de l'hémagglutination sont représentés dans le tableau 3.

Le premier test immunologique a été effectué sur le mélange des sangs de chaque lot, les quantités de sang obtenues pour chaque souris étant trop faibles. Deux essais successifs (colonne de gauche) n'ont pas permis de mettre en évidence des différences significatives entre les taux d'anticorps du lot témoin et des trois lots 10, 50, 250 ppm, que ce soit pour l'antigène Prague ou pour l'antigène Miami.

La seconde inhibition de l'hémagglutination a pu être réalisée sur les sangs de chaque souris, les quantités de sang obtenues par décapitation étant plus importantes. Ici encore, aucune différence n'existe entre les taux d'anticorps des différents lots, ni avec l'antigène Prague, (colonne du milieu), ni avec l'antigène Miami (colonne de droite) ce dernier ayant pourtant été traité par l'éther pour augmenter la sensibilité de la réaction. Les différences des résultats au sein des lots sont aussi importantes que celles entre les différents lots : la mesure des taux d'anticorps obtenus après une vaccination ne permet pas de mettre en évidence de différences significatives entre les réponses immunitaires des quatre lots.

3.4.3. Résultats de l'autopsie :

Les autopsies ont été réalisées en plusieurs temps. D'une part, chaque fois qu'une souris mourrait pendant la période d'observation de 13 jours,

CONCENTRATION DE DP5 DANS L'ALIMENT	POIDS MOYEN DU CORPS (g) + déviation standard	POIDS MOYEN DU FOIE (g) + déviation standard	POIDS MOYEN DES RATES (g) + déviation standard	POIDS MOYEN THYMUS (g) + déviation standard	RAPPORT DES POIDS X 10 ³		
					foie corps	rate corps	Thymus Corps
0 ppm	30,0 ± 2,4	1,706 ± 0,212	0,103 ± 0,021	0,029 ± 0,0017	57	3,4	0,967
10 ppm	33,2 ± 2,7	2,116 ± 0,314	0,132 ± 0,026	0,032 ± 0,002	64	4	0,964
50 ppm	32,9 ± 2,2	2,311 ± 0,302	0,115 ± 0,022	0,030 ± 0,0018	70	3,5	0,912
250 ppm	35,9 ± 5,3	3,395 ± 0,522	0,123 ± 0,022	0,032 ± 0,0018	95	3,4	0,891

TABLEAU 4 : POIDS DES ORGANES ET RAPPORTS POIDS ORGANES / POIDS CORPORELS DES SOURIS DES DIFFÉRENTS LOTS D'ÉTUDE.

elle était autopsiée et les prélèvements étaient effectués. D'autre part, une fois la période d'observation achevée, les quelques survivantes des lots ayant reçu la dilution du 1/500^e ont été tuées par décapitation et autopsiées. Enfin, les nombreuses survivantes des lots ayant reçu la dilution du 1/5000^e ont été conservées afin de pratiquer l'essai immunologique que nous avons expliqué : elles ont donc été tuées et autopsiées un mois après la fin de la phase d'observation. Ces autopsies ont révélé les faits suivants :

+ Foie : Tous les foies des lots témoins sont parfaitement normaux ; les foies des lots 10 et 50 ppm - légèrement hypertrophiés - ne présentaient que très rarement des lésions macroscopiques : deux fois seulement, on a pu y voir une dégénérescence avec décoloration perilobulaire. Par contre, tous les foies des lots ayant reçu 250 ppm présentaient une taille bien supérieure à celle des foies des autres lots, sans toutefois montrer d'autres lésions macroscopiques qu'une légère décoloration. Le tableau 4 donne les poids des corps, des foies, des rates et des thymus en fonction de l'intensité de la contamination par le DP₅, de même que les rapports :

poids de l'organe

poids du corps

On y constate que le poids du foie et le rapport hépatosomatique augmentent régulièrement avec la concentration en DP₅ dans l'alimentation.

Il faut signaler que ce tableau 4 regroupe en fait des résultats ayant été obtenus, non lors de notre propre expérimentation, mais au cours d'un travail préparatoire absolument identique dans sa conception et le déroulement de la contamination. Les résultats sont bien plus significatifs, les animaux ayant tous été tués en même temps, ce qui n'est pas le cas dans notre travail.

+ Rate et Thymus : quel que soit le lot considéré, on n'a observé aucune lésion macroscopique de ces organes. Comme le montre le tableau 4, il n'existe pas de différence significative entre les poids des rates et des thymus selon l'intensité de la contamination par le DP₅.

+ Autres constatations : L'autopsie permet de constater que l'état adipeux général de la carcasse est d'autant plus marqué que la dose de PCB dans l'aliment est élevée. En outre, on observe les lésions pulmonaires typiques de l'infection grippale : les poumons présentent un état de congestion et de bronchopneumonie en relation avec le pouvoir pathogène du virus, d'autant plus net que la dilution reçue était plus faible.

3.4.4. - Résultats histologiques :

Les prélèvements de foie, rate et thymus ayant été effectués sur les cadavres, ils sont fixés dans une solution de formol à 10 % tamponnée; les examens histologiques des différents organes sont effectués sur des coupes de 5 μ m, après coloration à l'Hémalun Phloxine-Safran par le Laboratoire d'Anatomie Pathologique de l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON. L'interprétation histologique des coupes nous a été facilitée par M. GASTELLU.

+ Rate : les follicules lymphoïdes sont normalement développés. La structure de la pulpe rouge est également normale, avec une hémosidérose modérée. Il n'y a aucune différence notable entre la structure histologique de la rate dans les différents lots et dans les lots témoins.

+ Thymus : De la même façon, il n'y a aucune modification histologique des thymus pouvant être mise en rapport avec la contamination par le DP₅ : entre autres, la proportion entre cortex et medulla est normale, ainsi que la population de thymocytes.

+ Foie :

- lots témoins : aspect histologique normal en tout point, avec une légère hyperhémie.
- lots 10 ppm : l'hyperhémie, un peu plus nette, s'accompagne de plages cellulaires où les cytoplasmes sont plus pâles et plus granuleux qu'ailleurs, avec des vacuoles claires arrondies.
- lots 50 ppm : on retrouve les mêmes phénomènes, un peu plus nets.
- lots 250 ppm : l'hyperhémie est très nette, les capillaires radiés sont gorgés d'hématies ; les zones pâles sont plus nombreuses, médio à centro-lobulaires ; l'aspect granuleux du cytoplasme est intense par endroits, il contient

TENEUR EN DP5 DE L' ALIMENT (en ppm = mg de DP5 par kg d'aliment)	TENEUR EN DP5 DU FOIE DES SOURIS. (en ppm = mg de DP5 par kg de foie frais)
0 ppm (Témoïn)	0,4 ppm
10 ppm	9,2 ppm
50 ppm	10,8 ppm
250 ppm	37,1 ppm

TABEAU 5 : DOSAGE DES RÉSIDUS DE DP5 DANS LES
FOIES DES SOURIS APRÈS TROIS MOIS DE CONTAMINATION
ALIMENTAIRE.

RÉSULTATS OBTENUS À PARTIR DE CHROMATOGRAMMES

de nombreuses vacuoles claires, rondes, bien délimitées, de taille variable, sans doute lipidiques. Enfin, certains noyaux d'hépatocytes ont un centre nettement plus clair, la chromatine semblant se regrouper à la périphérie : il s'agit d'images de pycnose,

Les lésions histologiques du foie sont d'autant plus marquées que la contamination par le DP_5 est forte : l'hyperémie et la stéatose sont de plus en plus nettes, et les lésions nucléaires n'apparaissent que pour les lots 250 ppm.

3.4.5. Dosage des résidus de DP_5

L'analyse et le dosage des résidus de DP_5 ont été pratiqués sur les foies et les rates conservés à -20°C . Les mesures ont été effectuées par chromatographie en phase gazeuse, après extraction hexanique, au Laboratoire de Pharmacie et Toxicologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON. Les résultats sont présentés dans le tableau 5, et représentent en réalité une moyenne obtenue à partir de deux mesures effectuées par deux modèles différents de colonne de chromatographie : SE 30 et SP 2401. Les conditions chromatographiques sont les suivantes :

- Appareil Packard-Becker modèle 409 à détecteur à capture d'électrons source Ni^{63} ;
- Phase SE 30 4 % + SP 2401 6 % ;
- Gaz vecteur : argon-méthane (90 - 10) ; débit 40 ml/mn ;
- Températures : four = 205°C ; injection = 240°C ; détecteur = 280°C .

3.5. DISCUSSION

3.5.1. - Etat général et gain de poids pendant la contamination :

Les souris n'ont montré aucune altération de l'état général pendant les trois mois de contamination, ni aucun symptôme extérieur de toxicité du DP_5 . En outre, la consommation alimentaire, et donc le gain de poids, ont été augmentés, en particulier à 250 ppm, de façon significative ($p < 0,01$). Ces résultats, comparables à ceux de KECK et al (51), à ceux de THOMAS et HINS DILL (105), ces derniers travaillant pourtant avec 1000 ppm d'Aroclor 1248, et à ceux de ORBERG (78) montrant une amélioration de la croissance de souriceaux suivant une contamination par le tri ou l'hexachlorobiphényle avant ou juste après la naissance, sont

très isolés par rapport au reste de la littérature. Même en ce qui concerne la souris, les résultats de LARSEN et CAMERON (16), avec 1000 ppm d'hexachlorocyclopentényl pendant un mois, sont très différents. Ils n'observent pas d'augmentation de la consommation alimentaire, ni du gain de poids. Puisqu'ils travaillaient pourtant avec des doses quatre fois supérieures de PCB, on peut penser que ce résultat négatif est dû au temps de contamination, trois fois plus faible que le nôtre. Cela est corroboré par le fait que NISHIZUMI (17), utilisant pourtant 1600 ppm d'Aroclor 1248, toujours chez la souris, n'observe aucune modification de l'état de ses animaux pendant trois mois. L'explication est seulement que les symptômes d'intoxication par le PCB apparaissent : diminution de l'activité, lésions cutanées érythémateuses des pomphres, ulcérations et perforations des pavillons auriculaires, alopécie et érosions cutanées au niveau du cou, des membres antérieurs et des côtes du thorax. Il semble donc bien que le facteur temps soit, chez la souris, fondamental dans l'apparition des troubles. Cela fait ressortir le caractère éminemment chronique de cette intoxication.

Une autre explication pourrait s'ajoutier à l'explication celle-ci : nous avons utilisé un mélange commercial de PCB, alors que LARSEN et CAMERON ont travaillé avec de l'hexachlorocyclopentényl pur ; la différence des résultats peut donc aussi provenir de la présence de PDDP dans notre D₁₂, de produit en contact (voir étude comparative du PCB, du D₁₂, du D₁₅ et de l'Aroclor, par YOS et KIDMAN (18)), et ces impuretés sont réputées être très toxiques, entre autres chez la souris, par les travaux de NISHIZUMI (17). À la dose de 200 ppm seulement, ils provoquent de l'eczème sous-cutané et des altérations dermiques. Leur présence dans le D₁₂ n'est peut-être pas étrangère à la différence de résultats si radicale existant entre nos travaux et ceux de LARSEN et CAMERON.

Si on étudie maintenant de quoi se passe dans d'autres espèces, on constate que les résultats s'éloignent encore bien plus des nôtres.

Pour ne citer tout d'abord que les travaux effectués chez le rat, il est très intéressant de noter sur des résultats contradictoires

entre eux et avec ce que nous avons trouvé : PLATONOW et al (82), distribuant 250 ppm de différents Aroclors pendant 8 semaines à des porcelets de 4 semaines, constatent qu'ils jouent un rôle de "facteur de croissance" : le gain de poids, par exemple, est amélioré de 50 % par l'Aroclor 1254. Par contre, HANSEN, WILSON et BYERLY (38), donnant 20 ppm seulement d'un PCB à des porcs du sevrage à l'âge commercialisable, trouvent au contraire une diminution de l'efficacité des aliments, traduite par un défaut de gain de poids. Cet effet néfaste sur la croissance, coïncide en outre avec des signes de toxicité du PCB : augmentation de l'incidence des pneumonies et des ulcères gastriques.

En ce qui concerne les autres espèces, les résultats montrant une dysorexie et une perte de poids sont bien plus fréquents que les résultats inverses. Ils ont été par exemple retrouvés chez les bovins, par VOS (111) ; chez les singes, par ALLEN (3 - dès 25 ppm d'Aroclor 1248), ALLEN et al (6 - 2 semaines après une prise unique de 1,5 g/kg), NISHIZUMI (72), THOMAS et HINS DILL (105 - 2,5 d'Aroclor pendant 6 mois) ; chez le poulet par HOLLEMAN et al (43) et par HARRIS et al (39) ; chez le cobaye, par VOS et VAN GENDEREN (115), VOS et de ROIJ (114), VOS et VAN DRIEL (113 - mais seulement au dessus de 50 ppm) ; chez le chien, par COUVILLION et al (25) (anorexie prononcée après 5 ppm d'Aroclor 1254, pendant 15 jours) ; chez le rat, enfin, par KERKVLIE et KIMELDOLF (53) , BRUCKNER et al (12). Dans cette dernière espèce, OISHI et al (76) retrouvent une perte de poids et d'appétit modérée avec 100 ppm de PCB, mais cet effet est beaucoup plus intense avec 10 ppm seulement de PCDF : cela souligne une fois encore, la toxicité majeure de ces impuretés dans les mélanges commerciaux de PCB, et explique sans doute une partie des différences de résultats entre les expérimentations.

Un autre facteur intervient sans doute dans cette différence : outre le fait que le composé administré peut être exempt ou non de PCDF, sa composition joue un rôle dans sa toxicité et son effet sur la croissance ; cela a été bien montré par IVERSON et al (47), chez le rat, puisque de l'Aroclor 1016 a entraîné une augmentation du poids corporel dans cette espèce, alors que l'Aroclor 1242 l'a diminué et a été néfaste

à la croissance. Or, ces deux composés du commerce ont le même degré de chloration moyen, de 42 %; la différence vient du fait que les composants sont en majorité des trichlorobiphényles pour l'Aroclor 1016, alors que la teneur de l'Aroclor 1242 en composants tétra et pentachlorés est plus élevée. Il semble ainsi que les composés les plus chlorés aient une toxicité supérieure aux autres, ce qui s'explique surtout par un métabolisme restreint (voir 1.5.1. Métabolisme des PCB : influence de la structure sur la rétention).

De même, les lésions cutanées, retrouvées chez la souris seulement avec 1600 ppm, pendant plus de trois mois, existent dans la plupart des autres espèces avec des doses et des temps d'exposition bien plus faibles : c'est en particulier le cas pour les singes, comme le montrent, entre autres, ALLEN (3), ALLEN et al (6); chez les Macaques Rhesus, ces auteurs obtiennent de l'alopecie, de l'acné sur la face et de l'oedème palpébral, et ce, à des doses d'Aroclor 1248 aussi faibles que 25 ppm pendant quelques mois; Avec 100 ou 300 ppm ces symptômes apparaissent en trois semaines et sont bien plus intenses. Ils s'accompagnent d'un oedème de toute la face, de la chute des cils, et d'une abondance de comédons sur l'épiderme facial.

L'importance du facteur temps nous apparait encore ici, puisque 2,5 ou 5 ppm suffisent à THOMAS et HINS DILL (105) pour provoquer les symptômes précédents, à condition de poursuivre l'administration quotidienne pendant 6 mois.

Dès 1971, VOS (111) avait signalé la présence d'hyperkératose chez des bovins contaminés à partir de tapis de caoutchouc. VOS et BEEMS (110), dans des expériences complémentaires, avaient reproduit ces troubles cutanés sur des lapins, non avec des PCB du commerce, mais avec les fractions de ces produits obtenues par chromatographie et correspondant aux PCDF. Ces auteurs en avaient déduit que ces impuretés étaient responsables de la majeure partie de l'effet toxique, pour la peau, des mélanges commerciaux de PCB (voir 2.2 : sensibilité du système

immunitaire aux polluants). D'ailleurs, OISHI et al (76) n'obtenant chez le rat qu'une dysorexie avec 100 ppm de PCB, provoquent, dans cette espèce, une anorexie accompagnée de lésions cutanées avec 10 ppm seulement de PCDF.

Ayant considéré les symptômes de toxicité des PCB obtenus chez la souris comme chez les autres espèces, bien qu'à des doses fort différentes, il nous faut maintenant montrer qu'il existe, dans la plupart des autres espèces, des lésions que l'on ne retrouve chez la souris dans aucune des expériences citées, même quand les conditions de contamination sont les plus sévères (1600ppm, plus de trois mois, NISHIZUMI - 72).

Il s'agit presque toujours de troubles des muqueuses oculaires ou digestives : conjonctivite ou blépharite chez le singe (3, 72) gastrite hyperplasique et ulcères chez le singe (3, 6), le porc (37, 38), et le rat (54). On retrouve aussi, mais moins fréquemment, des goîtres chez le rat (7), des hémorragies pulmonaires et pancréatiques toujours chez le rat (54) et même des troubles nerveux chez le porc (66) Il faut remarquer, en ce qui concerne ce tout dernier résultat, qu'il a été obtenu, avec d'autres troubles très graves, allant jusqu'au coma, chez des porcelets germfree : il semble bien, comme le signalent les auteurs, que l'extrême sensibilité de ces animaux soit due, autant à leur jeune âge qu'au fait qu'ils soient axéniques, ce qui constitue donc un cas très particulier.

On constate donc que le tableau clinique de la contamination des souris par les PCB est considérablement moins riche que dans les autres espèces. Pour expliquer cet état de chose, nous avons déjà fait remarquer qu'il n'est pas facile de comparer les résultats obtenus par les auteurs, car les expérimentations diffèrent autant par leur durée que par la dose de PCB administrée et la présence ou l'absence de PCDF dans la substance utilisée. Il est donc probable que tous ces facteurs jouent un rôle dans la disparité des résultats.

Toutefois, dans certains cas, ces explications sont difficiles à retenir : ainsi, dans les travaux de ALLEN (3) chez le Macaque Rhésus, 100 ou 300 ppm d'Aroclor 1248, distribués pendant trois mois, entraînent dès la troisième semaine de l'alopécie, des oedèmes de la face, la chute des cils, une conjonctivite, une gastrite hyperplasique et ulcéreuse, une anorexie accompagnée d'amaigrissement. Notre protocole est comparable à celui-ci : 250 ppm au maximum de DP₅ (correspondant à l'Aroclor 1254, très proche du 1248), et pendant le même temps. Mais les souris ne présentent aucun symptôme. De même, chez le cobaye, VOS et VAN GENDEREN (115) provoquent une mortalité de 80 à 100 %, après leur avoir distribué 250 ppm d'un PCB très voisin du DP₅, quotidiennement, pendant un mois et demi : aucune de nos souris n'est morte après un temps deux fois supérieur.

Dans ces deux exemples, on ne peut invoquer de différence ni entre les temps de contamination ni entre les doses de PCB administrées. Il existe une différence entre la nature des contaminants, mais le produit le plus toxique est utilisé chez la souris (les Phénoclors semblent en moyenne plus riches en PCDF que les Aroclors, voir l'étude comparative de VOS et KOEMAN - 107).

Il faut donc évoquer une différence de sensibilité inter-spécifique : en ce qui concerne les troubles cliniques dus aux PCB, la souris paraît bien moins sensible que les autres espèces, même quand elle est contaminée par un produit a priori plus toxique. La suite de la discussion va nous montrer si ce phénomène peut être retrouvé au niveau des autres résultats.

3.5.2 - Evolution de la maladie expérimentale :

En ce qui concerne tout d'abord la réponse pathologique des témoins (Oppm de DP₅), on peut dire qu'elle a été conforme à ce que l'on attendait, car les manifestations cliniques ont différé en intensité et en précocité suivant la concentration virale de l'inoculum. Ceci est en accord avec les résultats énoncés dès 1952 par GINSBERG et HORSFALL (cités par LEMERCIER - 59) selon lesquels la gravité de l'infection dépend de la quantité de virus inhalée : au-dessus d'une certaine dose administrée par voie intra-nasale, il y a une relation à peu près constante entre la quantité inoculée et le taux de multiplication du virus dans le poumon.

En ce qui concerne maintenant la grippe expérimentale des souris contaminées, le tableau 2 et les figures 11 (a, b, c) montrent clairement que les courbes de mortalité sont superposables, en intensité et en délai, entre les différents lots et le lot témoin; le degré de contamination ne semble agir en aucune façon sur l'évolution de la maladie : il n'y a pas de modification de la sensibilité des souris à une infection grippale expérimentale par le virus A/Équi/1/Prague 56 lorsque ces animaux ont été contaminés par le BP5 pendant trois mois.

Le modèle infectieux ayant une pathogénie complexe, on peut dire qu'il n'y a de modification, ni de la réceptivité au virus, ni de l'atteinte pulmonaire, ni de l'effet toxique général (lésion massive du poumon avec libération de facteur pyrogène toxique).

On constate que les dilutions virales étaient bien choisies. En effet, à la dilution de 1/50e (figure 11 c), l'infection est massive, nettement supérieure à la DI 50, les défenses de l'organisme sont sidérées, et cela peut expliquer qu'aucune différence ne soit visible entre les lots.

à la dilution de 1/5000e (figure 11 a), la dose infectante est très faible, nettement inférieure à la DI 50 (qui se situe entre 2×10^{-3} et 2×10^{-4}) ; la plupart des souris n'étant pas malades, cela peut aussi expliquer que les différences de sensibilité entre les lots n'apparaissent pas.

par contre, la dilution de 1/500e (figure 11 b) correspond à l'inoculum le plus favorable pour mettre en évidence d'éventuelles différences de réceptivité entre les lots, sa concentration virale étant proche de la DI 50. Il pourtant, même à cette dilution, la mortalité au 11e jour est sensiblement identique dans les quatre lots, l'aspect des malades est rigoureusement le même et l'autopsie révèle les lésions pulmonaires semblables.

En réalité, il semble que l'infection grippale ne soit pas un très bon modèle pour étudier l'effet immunodépresseur global des PCB : dans l'infection grippale primaire aigüe, il y a surtout intervention des défenses non spécifiques au niveau de la muqueuse respiratoire :

l'infection se fait de cellule à cellule et l'immunité humorale peut ne pas intervenir.

Le résultat clairement négatif de notre expérimentation est intéressant, car il s'oppose à ceux des travaux effectués par d'autres chercheurs dans ce domaine, et qui montraient au contraire une diminution de la résistance de divers animaux vis-à-vis d'infections microbiennes variées, quand ils étaient contaminés par certains produits chimiques entre autres des organochlorés, bien que ne présentant initialement aucun symptôme d'intoxication.

Nous avons déjà cité les travaux de HEMPHILL et al (41), qui, en donnant une faible dose de nitrate de plomb à des souris, avaient constaté une nette augmentation de leur mortalité après inoculation d'une souche de Salmonella. Utilisant le DDT, RADHAKRISHNAN et al (84) ont montré que de faibles doses de cet organochloré pouvaient augmenter nettement la sensibilité de poulets à l'histomonose. Enfin, concernant les PCB, on peut citer l'étude de LOOSE et al (63) qui constatent que la résistance de souris à l'endotoxine salmonellique et à la malaria est déprimée par l'apport alimentaire d'Aroclor 1242 pendant quelques semaines. FRIEND et TRAINER (30) chez le caneton, accroissent sa sensibilité au virus de l'hépatite du canard par administration préalable d'un PCB.

Outre ces résultats prouvant une diminution de la résistance à une infection en fonction de certaines contaminations chimiques, un autre résultat faisait de la souris soumise à l'action cumulée du DP_5 et du virus grippal un excellent modèle pour démontrer cet effet : il s'agit des travaux de SHIGEMATSU et al, d'abord en 1971 (96), puis en 1978 (97), concernant les effets des PCB sur l'appareil et la fonction respiratoire de sujets intoxiqués. Travaillant dans un premier temps, sur plus de 200 patients atteints du "Yusho oil disease" dont, nous avons déjà parlé, ils notent, entre autres symptômes, qu'environ 40 % des malades se plaignent de difficultés respiratoires, avec toux, respiration bruyante, expectoration ; ils retrouvent une concentration non négligeable de PCB dans les expectorats, ainsi que dans les tissus pulmonaires.

et trachéaux de malades autopsiés ; l'analyse histologique des tissus permet de constater une légère desquamation et une prolifération des épithéliums bronchiques et bronchiolaires, associée à une infiltration lymphocytaire de la muqueuse bronchique. Ils en concluent que l'intoxication par les PCB, qui fragilise sérieusement l'appareil respiratoire, peut entraîner un état critique du patient, soit en intervenant sur une infection respiratoire préexistante, soit en se compliquant secondairement d'une telle infection.

Dans un deuxième temps, ces auteurs ont élargi leurs investigations à 400 patients environ, et ont essayé de reproduire ces troubles respiratoires sur des rats auxquels ils ont donné des PCB par voie orale. Ils ont retrouvé les phénomènes précédents, tant sur les malades humains que sur les rats d'expérimentation, grâce à des études cliniques, histologiques et radiologiques : bronchite chronique, bronchiolite le plus souvent, et assez fréquemment pneumonie ou atélectasie. Ils ont encore noté que, chez plus de la moitié des patients, les troubles pulmonaires s'étaient trouvés aggravés par l'intoxication, alors même qu'une infection pulmonaire bactérienne ou virale existait chez eux depuis plus de 6 mois. Les auteurs ont en outre constaté une dépression dans la production de IgA et des IgM sériques chez les malades concernés.

Ainsi, dans les conditions de l'intoxication clinique par les PCB, il existe une atteinte des épithéliums respiratoires susceptible d'aggraver une infection locale déjà installée, ou de faciliter l'apparition d'une infection ultérieure.

Dans notre expérimentation, les souris ne sont pas cliniquement intoxiquées puisqu'elles n'extériorisent aucun trouble, mais leur contamination n'en est pas moins assez importante, au moins en ce qui concerne la plus forte dose : 250 ppm. La sensibilité de l'appareil respiratoire au virus aurait pu se trouver augmentée par les PCB, mais les résultats montrent que ce n'est pas le cas.

On peut en déduire que les PCB, non seulement n'ont pas diminué la résistance globale des souris à l'infection grippale, mais, en outre, n'ont pas exercé d'action histopathologique sur les épithéliums respiratoires : ils n'ont donc entraîné ni action générale, ni action locale.

Le passage des PCB dans les tissus pulmonaires de la souris a pourtant été clairement démontré par BRANDT (1975 et 1976, cité par SHIGEMATSU et al - 97) : ce chercheur a constaté que différents PCB peuvent être retrouvés dans le poumon après une contamination orale, non seulement au niveau des muqueuses bronchiques, mais dans l'ensemble du parenchyme pulmonaire ; la concentration des résidus dans les muqueuses dépend d'ailleurs directement de la dose de PCB administrée.

De nouveau, il nous faut conclure que les souris se sont montrées particulièrement résistantes à la toxicité des PCB, qui déprime pourtant les défenses d'autres espèces, et ce, malgré l'utilisation d'un virus dont le pouvoir pathogène aurait justement pu être favorisé par l'action préalable de ces substances.

Nous allons maintenant étudier l'action de la contamination par le DP₅ sur la morphologie et la structure des principaux organes immunocompétents, et voir si on retrouve à leur niveau l'inocuité de ce produit chez la souris.

3.5.3. Etat de la rate et du thymus :

Les résultats énoncés plus haut ont montré que ni la rate ni le thymus n'étaient modifiés par la contamination chimique, que ce soit morphologiquement ou pondéralement. En effet, les rapports spléno-somatique :

<u>poids de la rate</u>	et thymo-somatique :	<u>poids du thymus</u>
poids du corps		poids du corps

sont très voisins chez les animaux traités, quelle que soit la dose de DP₅ reçue, et chez les témoins : l'analyse des résultats par le test t de Student ne montre pas de différence significative. En outre, l'étude histo-pathologique ne révèle aucune différence entre les rates et les thymus des animaux traités et des témoins.

On peut donc conclure à l'absence d'effets, chez la souris adulte, de la contamination par le DP_5 sur les organes lymphopoiétiques intervenant dans la réponse immune : au terme de 90 jours de contamination aux concentrations de 10, 50 et 250 ppm, les caractéristiques anatomiques et histologiques de ces organes ne sont pas modifiées, alors qu'à ces mêmes doses, les effets hépatiques du PCB s'observent très nettement comme nous l'avons vu dans les résultats concernant cet organe.

Chez la souris, deux autres résultats vont dans le même sens : ceux de THOMAS et HINSOILL (105) contaminant leurs animaux pendant cinq semaines avec 50 à 1000 ppm d'Aroclor 1248, et ceux de LOOSE et al (62)

donnant 167 ppm d'Aroclor 1242 pendant six semaines : dans les deux cas, les auteurs ne remarquent aucun effet des PCB sur la morphologie et l'histologie de la rate et du thymus, ni des noeuds lymphatiques mésentériques.

Par contre, dès que l'on envisage les expérimentations semblables, mais effectuées sur d'autres espèces, les résultats sont différents. Il y a pratiquement dans tous les cas atrophie de la rate et du thymus, ou de la bourse de Fabricius chez les oiseaux. Cela a été vérifié chez le cobaye, par VOS et VAN GENDEREN (115), et VOS et VAN DRIEL GROOTENHUIS (113) ; chez le lapin, par STREET et SHARMA (103) et chez le poulet par FLICK et al (cités par le rapport de l'OMS - 77) et VOS et KOEMAN (107). En outre, ce phénomène peut être induit non pas par l'absorption de PCB par voie buccale, comme dans les cas précédents, mais par voie transcutanée : VOS et BEEMS (110) appliquent chaque jour des PCB sur la peau du dos de lapins, et provoquent chez eux l'atrophie de la rate et du thymus.

D'autres travaux enfin, ont montré que cet effet néfaste sur les organes lymphopoiétiques peut survenir chez le jeune alors que ses parents ont été contaminés. Un exemple chez les oiseaux est celui des expériences de HARRIS et al (39) dans lesquelles divers Aroclors sont distribués dans l'alimentation de poules pendant huit semaines. On constate une atrophie de la rate et de la bourse de Fabricius chez les

poussins de un jour issus des oeufs de ces poules ; cet effet persiste plusieurs semaines après l'interruption du régime contaminé chez les volailles.

Autre exemple, chez les mammifères cette fois : ALLEN et BARSOTTI (5) ont obtenu une sévère hypoplasie de la rate, du thymus et de la moelle osseuse chez de jeunes Macaques Rhésus dont les parents n'avaient pourtant reçu que des doses de l'ordre de 2,5 ppm de PCB pendant quelques mois.

L'atrophie de ces organes, que l'on observe à l'autopsie et à la pesée, s'accompagne, au plan histologique, d'une fonte du cortex thymique (113, 115) et d'une diminution du nombre et de la taille des follicules lymphoïdes dans la rate et les noeuds lymphatiques (113, 103).

Au plan immunologique, certains auteurs ont fait des recherches plus poussées. L'immunité humorale, tout d'abord, a été testée par la recherche et le comptage des cellules productrices d'anticorps (plasmocytes) dans le noeud lymphatique poplité par immunofluorescence indirecte (113, 115, 103). D'autres auteurs ont mesuré la réponse humorale suivant un contact antigénique. Utilisant la toxine tétanique, VOS et VAN GENDEREN (115) ont, par exemple, noté une plus faible production d'anticorps antitétaniques chez les cobaye ayant reçu des PCB que chez les témoins ; de même, THOMAS et HINS DILL (105) apportant 5 ppm d'Aroclor 1248 dans l'alimentation de Macaques Rhésus pendant 6 mois, mettent en évidence une chute de leur réponse en anticorps vis-à-vis de globules rouges de mouton, mais pas de la toxine tétanique ; ce dernier résultat montre que la dépression de la réponse humorale n'est pas constante. HARRIS et al (39), chez des poussins à rate et bourse de Fabricius atrophiées, obtiennent aussi une réponse en anticorps normale après un contact avec *Brucella abortus*.

En ce qui concerne l'immunité cellulaire, elle a surtout été testée par la réaction cutanée à l'injection intradermique de tuberculine : elle est nettement déprimée chez les animaux traités par rapport aux témoins (115, 113, 105).

Pour conclure au sujet des organes immunocompétents et de la réponse immune, on peut dire que, chez les différentes espèces étudiées dans les travaux que nous venons de citer, la contamination par les PCB s'accompagne d'une dépression significative des réponses cellulaires et humorales, visible dès l'autopsie par l'atrophie des principaux organes lymphopoïétiques et mesurée par le taux d'anticorps après un contact antigénique. Une fois encore, la souris s'oppose aux autres espèces, puisqu'elle n'est pas sujette à ces phénomènes. Cela explique que sa résistance à l'infection grippale n'ait pas été affectée.

Une explication possible peut être évoquée concernant la disparité des effets immunologiques des PCB dans les différentes espèces : il s'agit de l'effet immunodépresseur des glucocorticoïdes. Ces hormones, qu'elles soient injectées à l'individu ou sécrétées par la cortico-surrénale sous l'influence de l'ACTH antéhypophysaire, entraînent une lymphopénie et une diminution du nombre de cellules des tissus lymphoïdes, en particulier du thymus. Elles entraînent le blocage des monocytes circulants, diminuant ainsi le nombre de macrophages et l'immunité non spécifique. En outre, les glucocorticoïdes affectent la reconnaissance des antigènes par les macrophages et l'action des lymphocytes "effecteurs". Comme le montrent par exemple MONJAN et COLLECTOR (68), les fonctions des lymphocytes B et T sont fortement déprimées chez des souris ayant subi un stress auditif pendant plusieurs semaines, par rapport aux témoins, la corticosurrénale ayant réagi au stress par la production de glucocorticoïdes. Les propriétés immunodépresseuses de ces hormones sont d'ailleurs utilisées dans la pratique lors du traitement des maladies autoimmunes et lors des greffes.

Cela a conduit VOS à insister particulièrement sur la distinction à faire, lors des études concernant les effets immunodépresseurs

de produits chimiques, entre une dépression directe, réellement due à ces substances, et une dépression indirecte, due à une augmentation de production des glucocorticoïdes, à la suite d'un stress ou de l'action de la substance en cause sur la corticosurrénale. Il conseille pour faire la part de l'une et de l'autre, de pratiquer les expérimentations sur des animaux surrénalectomisés, ou plutôt, de réaliser des mesures régulières des concentrations sériques de glucocorticoïdes ; de plus, il faut observer les surrénales et les peser.

Dans certains de ses travaux, VOS a envisagé l'éventualité d'une dépression immunitaire indirecte (115, 113), mais il n'a mis en évidence, ni modification macroscopique, ni altération histologique des surrénales. Les PCB ne semblent donc pas agir à ce niveau et leur pouvoir immunosuppresseur serait direct.

Nous avons déjà cité les travaux de WASSERMANN et al (119) qui, ayant administré 200 ppm de DDT à des rats, ont montré que leurs surrénales étaient dès lors incapables de répondre par une hypertrophie et une augmentation de leur activité à un traumatisme chirurgical, comme c'est normalement le cas.

On peut donc conclure que, au moins dans certains cas, les substances chimiques immunodépressives agissent directement sur les organes immunocompétents, et non par l'intermédiaire des corticostéroïdes, puisque la surrénale n'est pas stimulée par ces composés, et peut même être déprimée par leur action, comme le montrent les résultats de WASSERMANN. Il ne semble donc pas que l'on puisse trouver là une explication satisfaisante à la présence ou à l'absence d'une immunodépression suivant les espèces, après une contamination chimique.

Les courbes de gain de poids nous ont montré que les souris contaminées par les plus fortes doses de DP_5 ont une croissance et un poids supérieurs aux autres. L'autopsie a révélé que cela était dû, d'une part au fait que la carcasse était plus adipeuse, et d'autre part, à une taille du foie bien supérieur à ce qu'elle est dans les autres lots. C'est cet effet assez remarquable des PCB que nous allons aborder.

3.5.4. Etat du foie :

Cet organe nous apparaît dès l'autopsie et la pesée, comme le plus affecté par la contamination par le DP_5 . Pour plus de commodité, nous allons envisager successivement les quatre aspects suivants : l'aspect analytique, tout d'abord, qui va nous permettre de conclure que le DP_5 se retrouve dans le foie et peut expliquer son état ; l'aspect macroscopique ensuite, qui montrera la coïncidence de nos constatations avec celles d'autres auteurs, puis l'aspect histologique, qui orientera les interprétations du dernier aspect, biochimique.

+ Dosage des résidus : Le dosage des résidus de DP_5 dans le foie, effectué par la méthode exposée plus haut (tableau 5), permet de montrer que les souris étaient bien contaminées par l'absorption alimentaire de DP_5 . On constate aussi le tropisme hépatique très important du produit, retrouvé par tous les auteurs chez différentes espèces animales et avec d'autres PCB. La quantité de DP_5 , retrouvé dans le foie est proportionnelle à celle ingérée au cours de la période de contamination. Enfin, comme le montrent les chromatogrammes (figure 6 a et b), les composés les plus chlorés sont proportionnellement bien plus abondants dans le foie des souris que dans le DP_5 étalon, à l'inverse des composés peu chlorés : les premiers sont peu métabolisés et s'accumulent, les seconds sont éliminés après hydroxylation.

+ Aspect macroscopique, comme nous le montre le tableau 3, le poids du foie et le rapport hépatosomatique augmentent régulièrement avec la concentration en DP_5 dans l'alimentation : cet effet est particulièrement important pour les lots ayant reçu 250 ppm - puisque le rapport hépatosomatique ($\times 10^3$) est passé de 57 chez les témoins à 95 chez eux. Ce phénomène a été retrouvé avec une remarquable régularité dans toutes les espèces étudiées expérimentalement, et, pour une fois, la souris ne fait pas exception. L'hépatomégalie suivant une

contamination par les PCB a ainsi été signalée chez le rat (11, 54, 94, 17), la souris (16, 72, 73), le cobaye (113), le lapin (122, 112), la poule et la caille japonaise (17, 19, 109), le porc (37) et les singes (3, 6, 45 , 72). Plusieurs travaux signalent que cette augmentation de taille du foie est directement liée à la concentration en PCB administrée aux animaux, ainsi qu'au degré de chloration moyen du mélange.

En ce qui concerne l'aspect superficiel du foie, nous avons vu que, dans nos propres résultats, il est un peu modifié : deux cas seulement de dégénérescence avec décoloration périlobulaire ont été notés dans les lots 10 et 50 ppm, et les foies des lots 250 ppm sont tous un peu pâles. NISHIZUMI (72) signale la présence de taches nécrotiques à la surface des foies des souris contaminées ; les singes utilisés par HSU et al (45) présentent tous des foies gros et pâles, et il en est de même de ceux des cobayes utilisés par VOS et VAN DRIEL-GROOTENHUIS (113), qui notent un aspect lobulaire. Tous ces phénomènes de décoloration, hypertrophie et lobulation font penser à une surcharge graisseuse du foie, mais nous verrons plus loin ce qu'il en est exactement. Rappelons ici les résultats de certains auteurs, dont ITO et al (cités par le rapport de l'O.M.S. - 77), qui retrouvent une augmentation très significative des nodules hyperplasiques et des carcinomes hépatiques après exposition prolongée de souris à divers PCB commerciaux : les PCB ont donc un effet cancérogène, tout au moins au niveau du foie.

+ Aspect histologique : L'étude anatomopathologique au microscope optique nous a permis de déceler une hyperémie, un aspect granuleux du cytoplasme et une prolifération des vacuoles lipidiques, tous trois d'autant plus importants que la contamination par le DP₅ est intense. De plus, à la dose de 250 ppm, les signes d'hépatotoxicité proprement dite apparaissent, entre autres les anomalies nucléaires et une stéatose prononcée.

Il est important de constater, comme le font CARTER et CAMERON (16), que l'hypertrophie du foie est due à une augmentation de la taille des hépatocytes et non pas à leur prolifération : le microscope montre qu'il y a accroissement du volume du noyau et du cytoplasme. Les auteurs qui ont réalisé l'histologie du foie d'animaux contaminés par les PCB font des constatations semblables aux nôtres ; c'est l'accumulation de vacuoles lipidiques qui est le plus souvent retrouvée (54, 73, 99, 17, 45) . Certains constatent en outre une dégénérescence et une nécrose hépatiques, accompagnées, aux fortes doses de PCB, d'une fibrose. Ces phénomènes sont le plus souvent centrolobulaires (122, 107, 110, 113). IATROPOULOS et al (46) signalent en outre des altérations des veinules et des artérioles hépatiques, entraînant, selon ces auteurs, une hypoxie et une dégénérescence secondaires du foie.

En ce qui concerne les cellules de Kupffer, leur gonflement et leur activation sont parfois signalés, ainsi que l'accumulation dans leur cytoplasme de pigments bruns (113, 54, 72).

Ainsi que le montrent les phénomènes constatés par la microscopie optique, il semble bien que les hépatocytes et les cellules de Kupffer subissent, lors de la contamination par les PCB une augmentation de leur activité : accroissement de la taille, du noyau, des pigments cytoplasmiques, des vacuoles lipidiques.

Les auteurs qui ont réalisé les études des foies en microscopie électronique constatent les faits suivants, qui valent pour toutes les espèces utilisées , mammifères, poissons ou oiseaux : il y a le plus souvent une prolifération des réticulums lisses et granulaires, elle peut être considérable, et la plupart des auteurs lui attribuent l'hypertrophie cellulaire (3, 16, 54, 73, 72, 93, 112, 100) ; le réticulum lisse peut être disposé en cercles concentriques (3), les mitochondries augmentent en nombre, mais non en taille (16) ; elles sont fréquemment atypiques (54) ou déformées par des proliférations de la membrane des hépatocytes (93), mais les replis de leur membrane interne se compliquent (16) ; enfin, on assiste à un accroissement de la taille et du nombre des lysosomes (16, 72). Tout, au niveau

de l'ultrastructure, semble donc confirmer que l'activité cellulaire est augmentée : les réticulums lisses et granuleux prolifèrent, les mitochondries aussi, et leur structure interne se complique, et les lysosomes eux mêmes se développent. D'ailleurs, l'augmentation du RNA cellulaire, outre celle que nous venons de signaler, au niveau des ribosomes du réticulum granulaire, a été retrouvée par des méthodes histochimiques (6, 61, 108, 109) ce qui confirme cette augmentation d'activité cellulaire. Notons que c'est probablement cette prolifération des organites qui explique l'aspect granuleux du cytoplasme que nous avons observé dans les hépatocytes des souris.

Certains résultats diffèrent cependant des précédents. Il s'agit tout d'abord de ceux qu'obtiennent CONRADT et al (23) au niveau de macrophages du péritoine de souris, où ils notent une diminution de la synthèse de RNA qui pourrait, selon eux, expliquer l'immunodépression due aux PCB. Il s'agit ensuite de ceux de ALLEN (3) qui constate chez le singe, que le réticulum prolifère effectivement mais n'accroît pas son activité : le réticulum nouvellement formé serait en fait hypoactif. Citons, enfin, les résultats de NISHIZUMI (70) qui note plutôt une diminution du réticulum granulaire du foie chez la souris.

Cependant, la plupart des auteurs s'accordent à reconnaître aux PCB un rôle inducteur de l'activité des hépatocytes : les lysosomes jouent un grand rôle dans la digestion et la résorption des composés étrangers et des organites morts ou infonctionnels : il semble donc que leur prolifération soit essentielle aux besoins de la digestion cellulaire dans des cellules dont le volume a beaucoup augmenté. Il est aussi logique que le nombre des mitochondries augmente, ainsi que la complexité de leur structure, pour satisfaire aux besoins respiratoires et énergétiques de la cellule. Enfin, la prolifération du réticulum lisse est à mettre en relation avec le pouvoir d'induction enzymatique très puissant des PCB ; le degré de prolifération est d'ailleurs directement relié au degré de chloration du PCB et surtout à la présence de chlore en position 4 et 4' (HANSELL et ECORICHON, 197 cite par CARTER et CAMERON -16). Cela explique par exemple le résulta

particulier de NISHIZUMI (70) qui ne constate pas d'augmentation du réticulum granulaire : cet auteur utilise un mélange à 48 % de chloration, pauvre en hexachlorobiphényle, composé chloré en 4 et 4' et très riche en chlore, qui est, par conséquent, le plus actif sur le réticulum.

Tous ces effets favorables à l'activité de l'hépatocyte, s'observent à des doses relativement modérées de PCB : aux doses plus importantes, l'effet devient plutôt néfaste (250 ppm dans notre expérimentation). Peut-être cela est-il dû au fait que le réticulum lisse se forme en grande quantité à partir du réticulum granulaire préexistant, mais sans qu'il y ait formation de nouveaux ribosomes, comme le suggèrent ORRENIUS et ERICSSON (cités par CARTER et CAMERON - 16) ; c'est aussi la théorie de ALLEN (3) qui pense que le réticulum bien que très développé, est peu actif ; cette opinion est reprise par VOS et NOTENBOOM-RAM (112) qui pensent en outre que la majeure partie de ces effets du PCB sur l'histologie et l'ultrastructure du foie est due aux PCDF.

La recherche de l'origine de ces effets nous conduit enfin à envisager l'interprétation biochimique que l'on peut en donner.

+ Aspect biochimique : notre expérimentation ne comporte pas d'investigation particulière dans ce domaine, mais il est nécessaire de l'évoquer pour expliquer ce que nous avons constaté au niveau du foie. Nous savons que les PCB ont un tropisme très marqué pour cet organe, et nous l'avons vérifié en réalisant le dosage du DP_5 .

Les PCB n'étant, pour la plupart d'entre eux, que très peu et très lentement métabolisés, ils tendent à s'accumuler dans le foie, et ont tout le temps d'agir sur le métabolisme intense de l'hépatocyte avant d'être éliminés.

Cette action se fait par l'induction enzymatique - phénomène dont nous avons évoqué plus haut les principales caractéristiques.

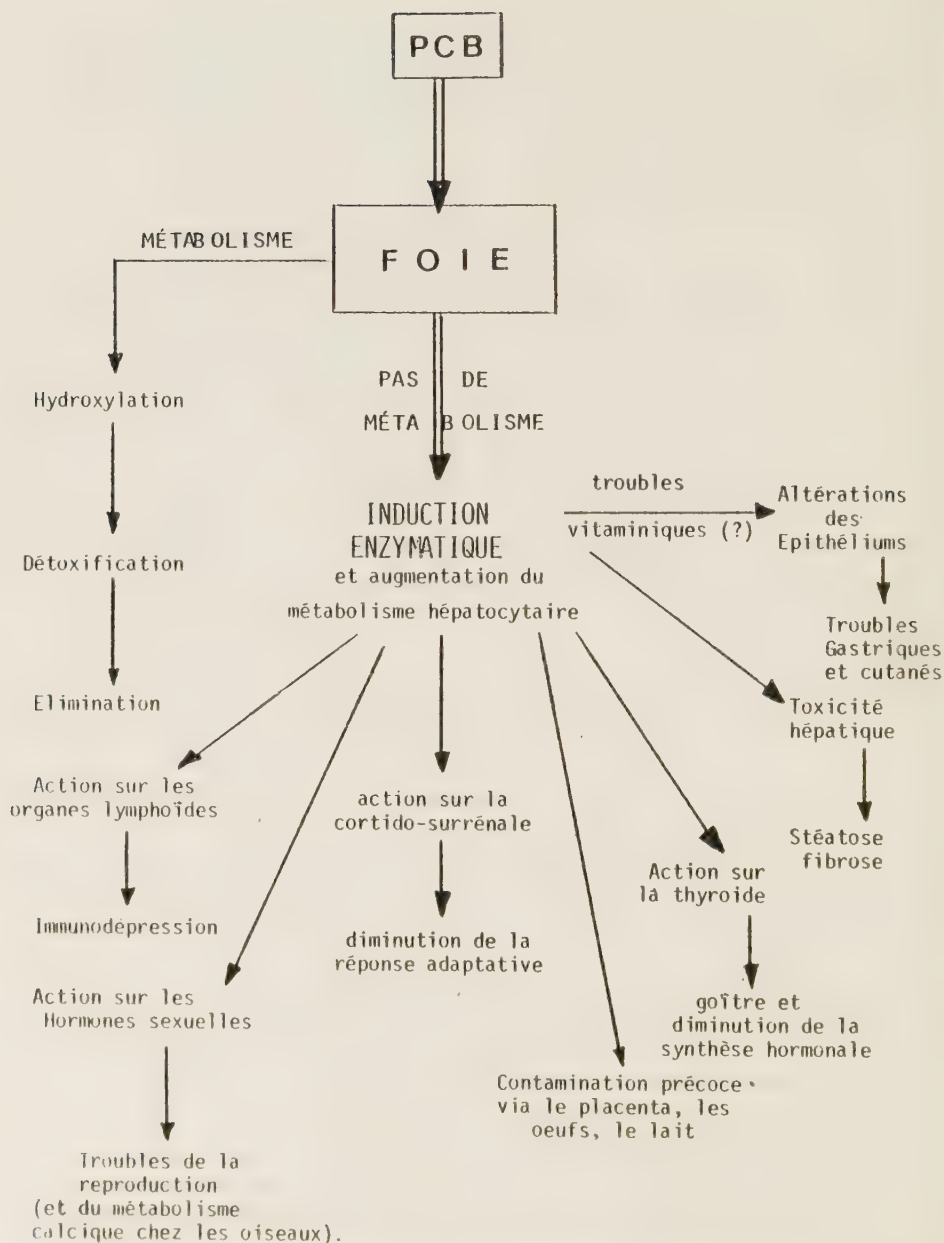


FIGURE 12 : MODES D'ACTION DES PCB DANS L'ORGANISME.

Aux doses dont la toxicité n'est pas clinique, les PCB accélèrent la synthèse des enzymes, surtout microsomales, agissant du même coup sur toutes les réactions cellulaires qu'elles catalysent.

CARTER et CAMERON (16) présentent la séquence des événements: la contamination par les PCB entraîne une induction des enzymes microsomales des hépatocytes, ce qui provoque la prolifération du réticulum lisse qui se forme. Les organites respiratoires et énergétiques que sont les mitochondries se multiplient pour permettre à la cellule d'augmenter son activité métabolique, et les lysosomes, qui assurent la résorption des déchets, se développent parallèlement.

Ainsi, toute la configuration des organites cellulaires est modifiée par l'induction enzymatique et ses conséquences sur la biosynthèse protéique et la production d'énergie ; ce phénomène est à la base des modifications morphologiques (hypertrophie du foie, surcharge graisseuse) et métabolique (augmentation de la consommation alimentaire, porphyrie, troubles hormonaux...) constatées chez les animaux contaminés.

3.6 - BILAN

3.6.1. Mode d'action des PCB :

Nos résultats et leur discussion à la lumière de ceux des autres auteurs ne nous ont pas permis d'élucider le mode d'action des PCB sur la réponse immune. Mais on peut supposer, d'après ce que nous avons vu dans les chapitres précédents, que leur effet est multiple (voir figure 12) : modification de l'activité de certaines enzymes hépatiques, et donc de l'homéostasie hormonale; diminution de la capacité de réaction des surrénales ; contamination précoce par passage transplacentaire, mammaire et folliculaire, et donc action sur des organismes très fragiles ; altérations des épithéliums gastrique et cutané ; toxicité hépatique, avec stéatose ou fibrose ; action goïtrogène, et enfin, atrophie des organes lymphoïdes.

La plupart de ces facteurs peuvent faciliter la pénétration, la multiplication et l'action pathogène des agents infectieux dans l'organisme.

De façon plus précise, CONRADT et al (23), dans un travail très récent déjà cité, ont extrait des macrophages à partir du péri-toine de souris et ont étudié la synthèse de leur RNA, utilisant, dans ce but, l'incorporation d'uridine tritiée par ces cellules lors d'une stimulation non spécifique de la mitose (test de transformation lymphoblastique : TTL). Ils ont montré que cette incorporation - et donc la synthèse du RNA, reflet de la transformation lymphoblastique - étaient nettement déprimées en présence d'Aroclor 1242 ; en outre, les macrophages sont alors moins aptes à phagocyter des particules de latex. Cette action dépressive, obtenue à partir de 7 ppm d'Aroclor, pourrait bien expliquer la dépression immunitaire, vu le rôle fondamental des macrophages dans la réponse immune. Cela expliquerait en outre que cette lésion biochimique, au niveau de la synthèse du RNA de cellules immunocompétentes, ne s'accompagne parfois, ni de modifications histologiques des tissus lymphoïdes cibles, ni, a fortiori, de symptômes d'intoxication clinique.

3.6.2 - Choix du modèle :

Nous avons constaté que les souris ne présentaient ni altération de l'état général, ni modification des principaux organes immunocompétents, ni diminution de la résistance à une infection grippale expérimentale. Le seul effet observé, à des doses pourtant aussi fortes que 250 ppm par jour pendant trois mois, est un effet hépatique, somme toute modéré, puisqu'il y a au maximum hépatomégalie et stéatose, et un gain de poids supérieur à la normale.

En considérant par contre l'ensemble des autres espèces utilisées par les différents auteurs, on constate que les effets des PCB sont bien plus importants, bien que les doses administrées soient le plus souvent nettement inférieures aux nôtres, et les temps de contamination moins longs. Les effets toxiques des PCB contrastent

avec ceux observés chez la souris : la croissance et l'état général sont souvent gravement affectés ; l'atrophie de la rate et du thymus, et de la bourse de Fabricius, s'accompagne souvent d'une sensibilité accrue à des infections bactériennes ou virales ; enfin, les effets néfastes sur le foie sont retrouvés dans tous les cas.

La souris présente donc une résistance élevée aux effets toxiques des PCB administrés dans l'alimentation, comparativement aux autres espèces, même proches, comme le rat ou le cobaye. Des doses considérables de PCB n'entraînent que des modifications mineures concernant la consommation alimentaire et le poids du foie : 250 ppm constitue encore une dose subclinique chez la souris, alors qu'elle entraîne rapidement la mort d'oiseaux et de singes.

Quand on considère l'ensemble assez cohérent des résultats obtenus dans les autres espèces, on constate que les PCB ont un effet immunodépresseur, que nous n'avons pas retrouvé dans ce travail.

Il est bien difficile, à partir des données actuelles, de dire d'où provient la résistance de la souris aux PCB. Cela est d'autant moins facile que la comparaison entre les différents travaux est délicate : il faut tenir compte du PCB utilisé, et de son degré de chloration, de la présence ou de l'absence d'impuretés toxiques (polychlorodibenzofuranes), de la dose administrée, de la durée de contamination et de l'espèce animale utilisée.

Des données assez récentes permettent pourtant de s'orienter vers un phénomène d'ordre métabolique : les souris, lors de la biotransformation hépatique des PCB, formeraient moins de métabolites réactifs dangereux que les autres espèces, ce qui expliquerait le peu d'importance de la toxicité en aval de l'hépatocyte.

Concernant tout d'abord le mécanisme de base du métabolisme des PCB dans le foie, différents auteurs ont montré qu'il s'agit d'une hydroxylation, réalisée au niveau des microsomes grâce à des mono-oxygénases (voir figure 4a), et facilitant l'élimination de ces composés : on a retrouvé, dans l'urine d'animaux auxquels on avait administré des PCB, les dérivés mono ou di-hydroxylés de ces derniers (121, 14, 29) (voir figure 4 b et c). Mais des travaux récents, cités par JERINA et DALY (48) montrent que les monooxygénases forment, outre les phénols, des métabolites intermédiaires labiles, que l'on appelle des arène-oxydes (voir figure 4 d et figure 5) ; SHIMADA (98) pense que ces composés sont responsables de la majeure partie des effets toxiques des hydrocarbures polycycliques et des benzènes halogénés ; en effet, avant d'être transformés en dérivés dihydrodiols inactifs par une époxyde hydratase microsomiale, et éliminés dans l'urine, ils pourraient, grâce à leur très grande réactivité, se lier de façon covalente à des macromolécules cellulaires très importantes, telles le DNA, le RNA, et diverses protéines (89). HSU et al (45) ainsi que de nombreux autres auteurs, supposent que cela explique les effets cancérigènes et mutagènes de ces composés (voir figure 5). La nature des sites de liaison des arène-oxydes avec les biopolymères, et l'ensemble des paramètres cinétiques et structuraux qui influencent à la fois leur réactivité et leur capacité à se fixer à des molécules cibles importantes, sont en voie d'étude. (48).

L'importance relative de l'hydroxylation directe des PCB et de leur hydroxylation via les arène-oxydes a été mesurée par SAFE, HUTZINGER et JONES (89) chez les lapins : leur ayant donné du tétra chlorobiphényle par voie orale, ils constatent que leur urine contient surtout du tétrachlorobiphényl et du tétrachlorobiphényldiol ; utilisant ensuite du TCB marqué, ils remarquent que le métabolite mono-hydroxylé retient 79 % du deutérium, ce qui semble en accord avec un intermédiaire arène-oxyde lors de la première hydroxylation ; le métabolite dihydroxylé se forme par contre grâce à une seconde hydroxylation qui, elle, est directe.

Chaque espèce semble caractérisée par son pourcentage d'hydroxylation directe des hydrocarbures polycycliques par rapport à l'hydroxylation indirecte, qui est la seule dangereuse. Par une méthode proche de celle que nous venons de citer, HSU et al (45) montrent que le pourcentage d'hydroxylation indirecte est élevé chez le Rhésus, donc que la formation d'arène-oxydes dans cette espèce est importante, probablement comme chez l'homme. Les résultats sont confirmés par ceux de ALLEN (3), toujours chez le macaque Rhésus. Ces deux auteurs comparent le cas de ce singe avec celui du rat, et pensent que la différence de sensibilité aux PCB entre les deux espèces tient à une formation moins intense d'arène-oxydes chez ce dernier.

Le cas de la souris, enfin, a été abordé par THOMAS et HINS DILL (105) qui ont travaillé en même temps sur le Macaque Rhésus. Ils constatent, alors que les singes ont subi une dépression de leur état général et de leur immunité avec de faibles doses de PCB, que les souris ont toléré des taux aussi énormes que 3760 ppm d'Aroclor 1248 dans leurs tissus. Ils suggèrent que cette différence est due, ici encore, au mode de métabolisme : les souris, comme les rats, pratiquent surtout une hydroxylation directe des PCB, suivie d'une excrétion biliaire et urinaire, alors que le métabolisme des PCB chez les singes passerait surtout par la voie des arène-oxydes.

Sachant que le rat est nettement plus sensible que la souris à l'effet des PCB, on peut admettre que la séquence de l'intensité de formation des arène-oxydes est la suivante :

primates > rat > souris

Ce travail n'a donc pas mis en évidence de diminution de la résistance de nos souris à une infection grippale expérimentale par une contamination préalable par le DP₅. Ce résultat négatif est cependant intéressant, car, associé aux autres résultats de cette expérimentation, il nous permet de souligner l'exceptionnelle tolérance de la souris à la toxicité chronique des PCB, par rapport aux autres espèces. Cette tolérance a été retrouvée par les autres auteurs travaillant avec la même espèce, et certains d'entre eux ont suggéré qu'elle était due à une formation réduite d'intermédiaires réactifs de type arène-oxyde lors de la biotransformation hépatique des PCB. La conclusion la plus intéressante de ce travail sera donc sans doute l'importance qu'il faut accorder, dans des expérimentations de ce genre, à la variation de sensibilité interspécifique à tel ou tel composé. Si nous n'avons pu donner d'explication certaine concernant cette variation, au moins avons nous pu en donner un exemple supplémentaire.

Au sujet de cette variation interspécifique, soulignons encore le parallèle existant entre la résistance de l'organisme aux infections et l'état général de l'animal : en présence de PCB, les primates présentent à la fois une altération de leur état général accompagnée de divers symptômes, et une augmentation de sensibilité aux infections. Dans les mêmes conditions, les souris ne présentent ni l'une ni l'autre. Tout se passe comme si la dépression immunitaire était liée, plus à une diminution de la résistance générale de l'organisme qu'à une action spécifique des PCB sur le système immunitaire.

La partie bibliographique de ce travail a bien montré que la toxicité des PCB est réelle dans toutes les espèces, même si la dose entraînant des effets comparables n'est pas la même. L'espèce la plus sensible paraît être l'homme, puisque des symptômes ont été décelés chez lui à la suite d'apports quotidiens de l'ordre de 5ppm ("Yusho"). Ces effets peuvent avoir été influencés par la présence d'impuretés plus

toxiques que les PCB eux-mêmes, mais des effets analogues ont été produits chez le singe avec des doses voisines d'un mélange ne contenant que peu de ces impuretés. Bien qu'on manque de données sur les concentrations à effets non décelés pour ce qui est de l'immunodépression, de la reproduction et de certaines actions biochimiques sur le foie, il paraît improbable que de tels effets se manifestent sous l'influence de doses quotidiennes de 0,1 ppm. Des effets cancérogènes ont bien été observés chez des rats et des souris soumis à des doses 100 fois supérieures, mais aucune donnée épidémiologique ne donne pour l'instant à penser que les PCB produisent des tumeurs chez l'homme.

Bien des inconnues existent encore sur la toxicité des PCB, concernant l'importance relative de celle des PCDF ; du degré de chloration ; l'action immunodépressive et la nature de son mécanisme, directe ou indirect ; le support biologique des variations de sensibilité interspécifiques, etc... Mais le pouvoir toxique lui-même est indéniable, et les PCB persistant actuellement dans tous les milieux, à des concentrations non négligeables malgré la restriction de leurs applications industrielles, ces mécanismes, particulièrement ceux concernant l'action sur le système immunitaire, méritent d'être approfondis.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - AFTOSMIS J.G. et al. : Toxicology of PPB. I - Oral toxicity and embryotoxicity.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 22, n° 2, 316, 1972
- 2 - ALBRO P.W., FISHBEIN L. :
Intestinal absorption of PCB in rats
Bull. Environ. Contam. Toxicol., 8, 26-31, 1972.
- 3 - ALLEN J.R. :
Response of the non human primate to PCB exposure.
Federation Proceedings, 34, n° 8, 1675-1679, 1975.
- 4 - ALLEN J.R., ABRAHAMSON L.J.
Response of rats exposed to PCB for 52 weeks. II - Compositionnal and enzymatic changes in the liver.
Arch. Environ. Contam. Toxicol. 8 (2), 192-200, 1979.
- 5 - ALLEN J.R., BARSOTTI D.A.,
The effects of transplacental and mammary movement of PCBs on infant rhesus monkeys.
Toxicology, 6, 331-340, 1976.
- 6 - ALLEN J.R., NORBACK D.H., HSU I.C. :
Tissue modifications in monkeys as related to absorption, distribution and excretion of PCB.
Arch. Environ. Contam. Toxicol. 2, n° 1, 86-95, 1974.
- 7 - BASTOMSKY C.H. :
Goitres in rats fed polychlorinated biphenyls.
Can. J. Physiol. Pharmacol. 55, 288-292, 1977.
- 8 - BENTHE H.F., SCHMOLDT A., SCHMIDT M. :
Induction of microsomal liver enzymes after PCB and following stress.
Arch. Toxicol. 29, 97-106, 1972.
- 9 - BLUS L.J., et al. :
Residues of organochlorines and heavy metals in tissues and eggs of brown pelicans, 1969-1973.
Pestic. Monit. J. 11, 1, 40-49, 1977.
- 10 - BRIGGS D.M., HARRIS J.B. :
PCB influence on hatchability.
Poultry Science 52, 4, 1291-1294, 1973.

- 11 - BRUCKNER J.V. et al. :
The influence of ingestion of environmentally encountered levels of a commercial PCB mixture (Aroclor 1254) on drug metabolism in the rat.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 202, 1, 22-31, 1977.
- 12 - BRUCKNER J.V., KHANNA K.L., CORNISH M.M.
PCB induced alterations of biologic parameters in the rat.
Toxicol. and Appl. Pharm. 28, 189-199, 1974.
- 13 - BUNYAN P.J., PAGE J.M.J. :
PCBs. The effect of structure on the induction of quail hepatic microsomal enzymes.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 43, 507-518, 1978.
- 14 - BURSE V.W., MOSEMAN R.F., SOVOCOL G.W., VILLANUEVA E.C. :
PCB metabolism in rats following prolonged exposure to Aroclor 1242 and 1016.
Bull. Environ. Contam. Toxicol. 15, 1, 122-128, 1976.
- 15 - BUTSCHAK G., TEICHMANN B., SCHENNIG G., ZIEBARTH D.
The action of PCB (Kanechlor 500 and Delor 106) and 3- methylcholanthrene on the activity of some microsomal enzymes of the rat liver.
Acta Biol. Med. Germ. 37, 969-977, 1978.
- 16 - CARTER J.W., CAMERON I.L. :
Sublethal effects of a pure PCB on mice.
Exp. Molec. Pathol. 26, 228-250, 1977.
- 17 - CECIL H.C., HARRIS S.J., BITMAN J., FRIES G.F.
PCB induced decrease in liver Vit. A in Japanese Quail and rats.
Bull. Environ. Contam. Toxicol. 9, 3, 179-185, 1973.
- 18 - CECIL H.C., HARRIS S.J., BITMAN J.
Effects of PCB and PCT and PBB on pentobarbital sleeping times of Japanese quail.
Arch. Environ. Contam. Toxicol. 3, 2, 183-192, 1975.
- 19 - CECIL J.C., HARRIS S.J., BITMAN J. :
Liver mixed function oxidases in chickens : induction by PCB and lack of induction by DDT.
Arch. Environ. Contam. Toxicol. 7, 3, 283-290, 1978.
- 20 - CHAMBON P., CHAMBON R. :
Etude de micropolluants d'origine industrielle. I - Les polychloro-liphényles.
LYON Pharm. 24, 2, 185-190, 1973.

- 21 - CHEN T.S., DUBOIS K.P. :
Studies on the enzyme inducing effect of PCB.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 26, 504-512, 1973.
- 22 - COLLINS W.T., et al. :
Effect of PCB on the thyroid gland of rats.
Am. J. Pathol. 89, 1, 119-136, 1977.
- 23 - CONRADT P. et al. :
Incorporation of (^3H) uridine into RNA under the influence of dieldrin and PCB.
Ecotoxicol. Environ. Saf. : 3, 1, 10-17, 1979.
- 24 - Mc CORMACK et al. =
Concomitant dietary exposure to PCB and PBB : tissue distribution and arylhydrocarbon hydroxylase activity in lactating rats.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 47, 1, 95-104, 1979.
- 25 - COUVILLON J.L., EARL E.L., VAN LOON E.J. :
Toxicodynamics of PCB 1254 in the Beagle dog and miniature swine.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 29, 1, Abstract n° 73, 1974.
- 26 - DELONG R.L., et al. :
Premature births in California sea lions : association with high organo-chlorine pollutant residue levels.
Science, 181, 4105, 1168-1170, 1973.
- 27 - DESI I. et al. :
Immunosuppressive effects of chlorinated hydrocarbones and organo-phosphate pesticide application.
Egeszegtudomány, 20, 4, 358-368, 1976.
- 28 - FAZEKAS de SAINT GROTH S., DONNELLEY M. :
Studies in experimental immunology of influenza. V - Enhancement of immunity by pathotopic vaccination.
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 28, 77-85, 1950.
- 29 - FELT G.R., et al. :
Chronic toxicity of 2, 5, 4', trichlorobiphenyl in young rhesus monkeys.
I. Body distribution, elimination and metabolism.
Toxicol appl., pharmacol ; 41, 3, 619-627, 1977.
- 30 - FRIEND M., TRAINER D.O. :
Polychlorinated biphenyl : interaction with duck hepatitis virus
Science, 170, 1315, decem. 1970.

- 31 - FRIES G.F. et al. :
Long-term studies of residue retention and excretion by cows fed a PCB (Aroclor 1254).
J. Arg. Food Chem. 21, 117-121, 1973.
- 32 - FUJIWARA M., KURIYAMA K. :
Effect of PCB on L-ascorbic acid, pyridoxal phosphate and riboflavin contents in various organs and on hepatic metabolism of L-ascorbic acid in the rat.
Japan J. Pharmacol. 27, 621-627, 1977.
- 33 - GIAMBROME J.J., EWERT D.L., WYAIT R.D., EIDSON C.S. :
Effect of aflatoxin on the humoral and cell mediated immune systems of the chicken.
Am. J. Vet. Res. 39, 2, 305-308, 1978.
- 34 - GLICK B.
Antibody mediated immunity in the presence of Mirex and D.D.T.
Poultry science : 53, 1476-1485, 1974.
- 35 - GOTO M., HIGUCHI K.,
The symptomatology of Yusho (PCB poisoning) in dermatology.
Fuoka Acta Med. 60, 409-431, 1969.
- 36 - GRANT D.L. et al. :
Placental transfer of PCBs in the rabbit.
Environ. Physiol. 1, 61-66, 1971.
- 37 - HANSEN L.G., et al. :
Effect of a PCB mixture on swine reproduction and tissue residues.
Am. J. of Vet. Res. : 36, 1, 23-26, 1975.
- 38 - HANSEN L.G., WILSON D.W., BYERLY C.S.
Effects on growing swine and sheep of two PCB.
Am. J. Vet. Res. 37, 9, 1021-1024, 1976.
- 39 - HARRIS S.J., CECIL H.C., BITMAN J., LILLIE R.J. :
Antibody response and reduction in bursa of Fabricius and spleen weights of progeny of chickens fed PCBs.
Poultry Science. 55, 5, 1933-1940, 1976.
- 40 - HATTULA M.L., KARLOG O.,
Absorption and elimination of PCB in goldfish.
Acta Pharmacol. Toxicol., 82, 237-245, 1973.

- 41 - HEMPHILL F.E. et al. :
Lead suppression of mouse resistance to *Salmonella typhi* murium.
Science, 172, 1031-1032, 1971.
- 42 - HILL E.F., HEATH R.G., WILLIAMS J.D. :
Effect of dieldrin and Aroclor 1242 on Japanese quail eggshell thickness.
Bull. of Environ. Contam. and Toxicol. 16, 4, 445-453, 1976.
- 43 - HOLLEMAN K.A., BARNETT B.D., WICKER G.W. :
Response of chicks and turkey poults to Aroclor 1242.
Poultry Science, 55, 6, 2354-2356, 1976.
- 44 - HOLUB J.B., PIEKARSKI J., NILSSON K. :
The effect of a PCB (2, 4, 2', 4', - tetrachlorobiphenyl) on lipid-synthesizing enzymes in rat liver microsomes.
Bull. Environ. Contam. Toxicol. 14, 4, 415-421, 1975.
- 45 - HSU I.C., VAN MILLER J.P., ALLEN J.R. :
Metabolic fate of ^3H 2,5, 2', 5' - tetrachlorobiphenyl in infant non human primates.
Bull. Environ. Contam. Toxicol. 14, 2, 233-240, 1975.
- 46 - IATROPOULOS M.J., FELT G.R., et al.
Chronic toxicity of 2, 5, 4', trichlobiphenyl in young rhesus monkeys.
II - Histopathology.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 41, 3, 629-638, 1977.
- 47 - IVERSON F., VILLENEUVE D.C., GRANT D.L., HATINA G.V. :
Effect of Aroclor 1016 and 1242 on selected enzyme systems in the rat.
Bull. of Environ. Contam. and Toxicol. 13, 4, 456-463, 1975.
- 48 - JERINA D.M., DALY J.W.,
Arene oxides : a new aspect of drug metabolism.
Science, 105, n° 4151, 1974.
- 49 - KECK G. :
Etude écologique et toxicologique d'un micropolluant type : les PCB.
Rev. Med. Vet. 128, 1, 25-49, 1977.
- 50 - KECK G., RAFFENOT J.,
Etude éco-toxicologique de la contamination clinique par les PCB dans la rivière du Furans (Ain).
Rev. Med. Vet. 130, 3, 339-358, 1979.

- 51 - KECK G., DELATOUR, PAPAGEORGIOU C., RICHARD Y., GASTELLU J.
Etude des effets immunologiques des PCB chez la souris.
Communication personnelle. Ecole Nat. Vet. LYON.
- 52 - KERKVLIT N.I., KIMELDORF D.J.
Inhibition of tumor growth in rats by feeding a PCB, Aroclor 1254.
Bull. Environ. Contam. Toxicol. 18, 2, 1977.
- 53 - KERKVLIT N.I., KIMELDORF D.J.,
Antitumor activity of a PCB mixture, Aroclor 1254, in rats inoculated
with Walker 256 carcinoma cells.
J. Nat. Cancer Inst. 59, 3, 1977.
- 54 - KIMBROUGH R.D., LINDER R.E., GAINES T.B. :
Morphological changes in livers of rats fed PCB.
Arch. ENVIRON. Health. 25, 354-364, 1972.
- 55 - KOLLER L. :
Immunosuppression produced by lead, cadmium and mercury.
Am. J. Vet. Res. 34, 11, 1457, Nov. 1973.
- 56 - KOLLER L.D. , THIGPEN J.E. :
Biphenyl exposed rabbits.
Am. J. VET. Res. 34, 12, 1605-1606, 1973.
- 57 - LATIMER J.W., SIEGEL H.S.,
Immune response in broilers fed technical grade DDT.
Poultry Sci. 53, 1078-1083, 1974.
- 58 - LEMERCIER G. et al. :
La réponse immunitaire locale au cours de la grippe expérimentale de la
souris : immunoglobulines, anticorps spécifiques et réponse anamnétique
des sécrétions bronchiques.
Arch. Virol. 53, 45-53, 1977.
- 59 - LEMERCIER G. :
La grippe expérimentale de la souris BALB/C infectée par le Myxo Virus
influenzae A₂/ Hong Kong / 1 / 68 (HA₃-NA₂) . Histopathologie, ultra-
structure de l'infection virale, réponse immunitaire locale.
Thèse Med. 1977. LYON.
- 60 - LILLIE R.J., CECIL H.C., BITMAN J.; FRIES G.F. :
Toxicity of certain PCB and PBB on reproductive efficiency of caged
chickens.
Poultry Science 54, 5, 1550-1555, 1975.

- 61 - LINCER J.L., PEAKALL D.B. :
Metabolic effects of PCBs in the American Kestrel.
Nature, 228, 21, 783, 1970.
- 62 - LOOSE L.D., PITTMAN K.A., BENITZ K.F., SILKWORTH J.B. :
PCB and hexachlorobenzene induced humoral immunosuppression.
J. Reticulo endothelial Soc. 22, 3, 253-271, 1977.
- 63 - LOOSE L.D., SILKWORTH J.B., PITTMAN K.A. :
Impaired host resistance to endotoxin and malaria in PCB and HCB treated mice.
Infect. Immun. 20, 1, 30-35, 1978.
- 64 - MASUDA Y, KAGAWA R., TOKUDOME S., KURATSUNE M. :
Transfer of PCBs to the featuses and offspring of mice.
Food Cosmet. Toxicol. 16, 33-37, 1978.
- 65 - METCALF R.L. :
Laboratory model ecosystem evaluation of the chemical and biological behavior of radiolabeled micropollutants.
Environ. Qual. Safety. 5, 141-151, 1976.
- 66 - MINIATS O., PLATONOW N.S., GEISSINGER M.D. :
Experimental PCB toxicosis in Germfree pigs.
Canadian J. of Comparative Med. 42, 2, 192-199, 1978.
- 67 - MIZUTANI T., HIDAKA K., OHE T., MOOTSUMOTO M. :
A comparative study on accumulation and elimination of tetrachloro-biphenyl isomers in mice.
Bull. Environ. Contam. Toxicol. 18, 4, 1977.
- 68 - MONJAN A.A., COLLECTOR M.I. :
Stress induced modulation of the Immune response.
Science, 196, 4287, 307-308, 1977.
- 69 - MORITA M., DISHI S.,
Clearance and tissue distribution of PCDF In mice.
Bull. Environ. Contam. Toxicol. : 18, 1, 61-66, 1977.
- 70 - NAGAO S., HOSOYA M. :
Distribution of C₁₄-labelled PCB and BHC in the Japanese quail by whole body autoradiography.
Acta Pharmacol. et Toxicol. n° 41, 146-147, 1977.

- 71 - NISHIMURA M. et al. :
Levels of PCB and organochlorine insecticides in human embryos and fetuses.
Paediatrician ; 6, 1, 45-47, 1977.
- 72 - NISHIZUMI M. :
Light and electron microscope study of PCB poisoning in mouse and monkey liver.
Arch. Environ. Health. 21, 620-632, 1970.
- 73 - NISHIZUMI M. :
Acute toxicity of polychlorinated dibenzofurans in CF-1 mice.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 45, 1, 209-212, 1978.
- 74 - OHI G., FUKUDA M., SETO M., YAGYU H. :
Effect of Methylmercury on humoral Immune response in mice under conditions simulated to practical situation.
Bull. of Environ. Contamin. Toxicol. 15, 2, 1976.
- 75 - OISHI S. :
Influence of PCDFs and PCBs to serum protein components in rats.
Bull. Envir. Contam. Toxicol. 18, 6, 773-777, 1977.
- 76 - OISHI S., MORITA M., FUKUDA M.,
Comparative toxicity of PCBs and PCDFs in rats.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 43, 12-22, 1978.
- 77 - O.M.S. - RAPPORT DE GENEVE - 1977.
Critères d'hygiène de l'environnement. 2 - Polychlorobiphényles et Polychloroterphényles.
- 78 - ORBERG J.,
Effects of pure chlorobiphenyls (2- 4'- 5 trichlorobiphenyl and 2- 2', 4- 4'- 5, 5'- hexachlorobiphenyl) on the post natal growth in mice.
Acta Pharmacol. Toxicol. 42, 4, 275-279, 1978.
- 79 - ORBERG J., LUNDBERG C. :
Some effects of DDT and PCB on the hormonal system in the male mouse.
Environ. Physiol. and Biochem. 4, 3, 116-120, 1974.
- 80 - PETERSON R.E., SEYMOUR J.L., ALLEN J.R. :
Distribution and biliary excretion of PCBs in rats.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 38, 609-619, 1976.

- 81 - PLATONOW M., CHEN N.Y.,
Transplacental transfer of PCB (Aroclor 1254) in a cow.
Vet. Rec. 92, 69-70, 1973.
- 82 - PLATONOW N.S., MEADS E.B., LIPTRAP R., LOTZ F. :
Effects of some commercial preparations of PCB in growing piglets.
Can. J. of Comp. Med. 40, 4, 421-428, 1976.
- 83 - PLATONOW N.S., REINHART B.S. :
The effects of PCB Aroclor 1254 on chicken egg production, fertility
and hatchability.
Can. J. of Comp. Med. 37, 4, 341-346, 1973.
- 84 - RADHAKRISHNAN C.V. THOMPSON M.P., FORESTER D.J. :
Susceptibility of chickens fed DDT to histomonosis .
Bull. Environ. Contam. Toxicol. 8, 147-152, 1972.
- 85 - RAFFENOT J. :
Les PCB et leur comportement dans un écosystème de rivière : le Furans
(Ain).
Thèse de Doctorat de 3ème Cycle, 1979, LYON.
- 86 - RIVIERE J.L., DE LAVAU E., GROLLEAU G. :
Effect of PCB on drug metabolism in Japanese quails and its progeny.
Toxicology, 11, 4, 329-334, 1978.
- 87 - ROTOLO V.S.,
Evaluación de limfócitos T yB en ratos sometidos a la acción del parathion.
Medicina (Buenos Aires) 38, 2, 165-170, 1978.
- 88 - SAFE S., et al.
Metabolism : Detoxification of Toxification.
in "Aquatic Pollutants : transformation and Biological effects".
Pergamon Press, 1978.
- 89 - SAFE S., HUTZINGER O., JONES D. :
The mechanism of chlorobiphenyl metabolism.
J. Agric. Food Chem. 23, 5, 851-853, 1975.
- 90 - SANDERS H.O., CHANDLER J.M. =
Biological magnification of a PCB (Aroclor 1254) from water by aquatic
invertebrates.
Bull. Environ. Contamin. Toxicol. 7, 5, 257-263, 1972.

- 91 - SASCHENBRESCKER P.W. et al.
Persistence of PCB in the milk of exposed cows.
Vet. Rec. 90, 100-102, 1972.
- 92 - SAVAGE E.P., et al.
Organochlorine pesticide residues and PCB in human milk.
Pest. Monit. J. : 7, 1, 1-5, 1973.
- 93 - SCHMOLDT A., BENTHE M.F., MABERLAND G. :
Impaired biliary excretion of digitoxin and its metabolites after treatment with PCB:
Toxicol. Appl. Pharmacol. 47, 3, 483-491, 1979.
- 94 - SCHMOLDT A. et al.
Rat liver changes after subchronic exposition to PCB of low chlorine contents.
Arch. Toxicol. 37, 3, 203-217, 1977.
- 95 - SCHULMAN J.L. :
Effects of Immunity on transmission of influenza : experimental studies.
Progr. Med. Virol. 12, 128-160, 1970.
- 96 - SHIGEMATSU et al.
Clinical and experimental studies on respiratory involvement in chlorobiphenyls poisoning.
Fukuoka Acta Med. 62, 1, 150-156, 1971.
- 97 - SHIGEMATSU et al.,
Respiratory involvement in PCB poisoning.
Environ. Res. 16, 92-100, 1978.
- 98 - SHIMADA T. :
Metabolic activation of (¹⁴C) PCB mixtures by rat liver microsomes.
Bull. Environ. Contam. Toxicol. 16, 1, 1976.
- 99 - SIVARAJAH K., FRANKLIN C.S., WILLIAMS W.P. :
Some histopathological effects of Aroclor 1254 on the liver and gonads of rainbow trout, *Salmo gairdneri* and carp, *Cyprinus Carpio*.
J. Fish Biol. 13, 4, 411-414, 1978.
- 100 - SIVARAJAH K., FRANKLIN C.S., WILLIAMS W.P. :
Effects of PCB on plasma steroid levels and hepatic microsomal enzymes in fish.
J. Fish Biol. 13, 4, 1978.

- 101 - SÖDERGREN A. :
Transport, distribution and degradation of chlorinated hydrocarbon residues in aquatic model ecosystems.
Oikos, 24,- 30, 1973.
- 102 - SOLLY S.R. et al :
Effects of PCBs on poultry. I - Residues in tissues and eggs.
New Zealand J. of Agricultural Res. 19, 2, 225-229, 1976.
- 103 - STREET J.C. et R.P. SHARMA =
Alterations of Induced cellular and humoral immune responses by pesticides and chemicals of environmental concern : quantitative studies of immunosuppression by DDT, Aroclor 1254, Carbaryl, Carbofuran, and Methylparathion.
Toxicol and Appl. Pharmacol. 32, 587, 1975.
- 104 - TAKAGI et al.
Studies on the transfer and distribution of (¹⁴C) PCBs from paternal to fetal and suckling rats.
Toxicol. appl. Pharmacol. 38, 549-558, 1976.
- 105 - THOMAS P.T., HINSDILL R.D. :
Effects of PCBs on the immune responses of rhesus monkeys and mice.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 44, 41-51, 1978.
- 106 - TURNER J.C., GREEN R.S. :
New Zealand J. of Agricultural Res. 19, 2, 231-232, 1976.
- 107 - VOS J.G., KOEMAN J.M.
Comparative toxicologic study with PCB in chickens with special reference to porphyria, edema formation, liver necrosis and tissue residues.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 17, 656-668, 1970.
- 108 - VOS J.G., KOEMAN J.M., VAN DER MAAS H.L., VAN NOEVER DE BRAUW, DE VOS R.M.
Identification and toxicological evaluation of chlorinated dibenzofuran and chlorinated naphthalene in two commercial PCBs/
Food Cosmet. Toxicol. 8, 625-633, 1970.
- 109 - VOS J.G., STRIK J.J.T.W.A., VAN HOLSTEYN C.W.M., PENNING S.J.K. :
PCB as inducers of hepatic porphyria in Japanese quail with special reference to δ aminolevulinic Acid synthetase activity, fluorescence, and residues in the liver.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 20, 232-240, 1971.

- 110 - VOS J.G., BEEMS, P.B.,
Dermal toxicity studies of technical PCBs and fractions thereof
in rabbits.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 19, 617-633, 1971.
- 111 - VOS J.G.,
Hyperkeratosis in cattle due to contamination of rubber mats by
chlorinated naphthalenes and PCBs.
Tijdschrift voor Diergeneeskunde. 96, 1577-1586, 1971.
- 112 - VOS J.G., NOTENBOOM-RAM E. :
Comparative toxicity study of 2, 4, 5, 2', 4', 5', hexachlorobiphenyl
and a PCB mixture in rabbits.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 23, 563-578, 1972.
- 113 - VOS J.G. et LIDEKE VAN DRIEL GROOTENHUIS.
PCB induced suppression of the humoral and cell mediated immunity in
guinea pigs.
The Science of the Total Environ. (AMSTERDAM); 1, Août 1972, 289.
- 114 - VOS J.G., DE ROTJ Th.:
Immunosuppressive activity of a PCB preparation on the humoral immune
response in Guinea pigs.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 21, 549-555, 1972.
- 115 - VOS J.G., VAN GENDEREN M. :
Toxicological aspects of immunosuppression.
in "Pesticides and the environment - a continuing controversy". p. 527.
Intercontinental Medicinal Book Corporation, NEW YORK, 1973.
- 116 - VOS J.G., MOORE J.A., ZINKL J.G. :
Effect of 2, 3, 7, 8 - tetrachlorodibenzo-p-dioxin on the immune system
of laboratory animals.
Environmental and Health Perspectives. pp. 149-162, Sept. 1973.
- 117 - VOS J.G., MOORE J.A.,
Suppression of cellular immunity in rats and mice by maternal treatment
with 2, 3, 7, 8 - tetrachlorodibenzo-p-dioxin.
Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 47, 777-794, 1974.
- 118 - VOS J.G.,
Immune suppression as related to toxicology.
CRC Critical Reviews in Toxicology. pp. 67-99; Mai 1977.
- 119 - WASSERMANN M. et al.
Effects of organochlorine insecticides on body defense systems.
Ann. NEW YORK Acad. Sci. 160, 393-400, 1969.

- 120 - YAKUSHIJI T., TANAKA R., KUNITA M.,
PCB and organochlorine pesticides in mother's milk, blood and foods.
Paediatrician, 6, 1, 28-33, 1977.
- 121 - YOSHIMURA H., YAMAMOTO H.
Metabolic studies on PCB. I - Metabolic fate of 3, 4, 3', 4', tetra-
chlorobiphenyl in rats.
Chem. Pharm. Bull. 21, 1168-1169, 1973.
- 122 - ZINKL J.G., KOLLER L.D.,
Pathology of PCBs in rabbits.
Vet. Pathology, 12, 1, 63-64, 1975.

CONCLUSIONS

La première partie de ce travail, purement bibliographique, présente les données générales sur les polychlorobiphényles (PCB), concernant leur structure, leurs propriétés et leurs applications industrielles, leur devenir dans les milieux naturels et dans l'organisme et surtout les différents aspects de leur toxicité.

La seconde partie présente l'organisation générale du système et de la réponse immunitaire et leur sensibilité à divers polluants.

Enfin, la troisième partie, expérimentale, a étudié les effets de la contamination par le DP 5 sur les organes immunocompétents de la souris et sur sa sensibilité à une infection grippale expérimentale. Les résultats les plus intéressants sont, d'une part, que cette sensibilité n'est pas accrue par la contamination, et d'autre part, que la souris semble être tout particulièrement résistante à la toxicité des PCB.

Vu :

LE DIRECTEUR

de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon,

LE PROFESSEUR RESPONSABLE

de l'École Nationale Vétérinaire,

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,

Vu et permis d'imprimer

15 AVR. 1980

LYON 16, B. R. 5

LE PRÉSIDENT

DE L'UNIVERSITÉ LYON I

CLAUDE BERNARD

D. GERMAIN

